Microbiología Española

VOL. IV

N.º 1

MCMLI

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL
28 MAR 1960

SUMARIO

Páginas

CONFERENCIAS Y COMUNICACIONES

Corynebacterium renale, Migula (Pielonefritis bovina), primera comunicación, por **Santos Ovejero del Agua** 3

Flora aerobia de la fermentación en el enriado experimental del esparto, por **Vicente Callao** y **José Vigaray** ... 9

Fusarium sp. sobre Vicia faba, por **Camilo Torras Casals** 15

El factor de transformación moho-bacteria, por **A. Socías** y **G. Sierra** 23

De la metilación orgánica como factor de transformación moho-bacteria y su papel en la etiología microbiana del tracoma, por **A. Socías** 33

Sobre la determinación polarográfica del cloramfenicol, por **Gregorio Varela Mosquera** 39

INFORMACION

Profesor Victoriano Colomo y Amarillas (†) 45

Renovación de Directiva 46

Extractos de «Microbiología» 46

Actas de la Sociedad 47

BIBLIOGRAFIA

Vogel (H.).—1951. Die Antibiótica 49

Indice de artículos de revistas 50

SE SUPLICA EL CAMBIO
ON PRIE L'ECHANGE
AUSTAUSCH ERBETEN
EXCHANGE DESIRED

TODA LA CORRESPONDENCIA DEBE DIRIGIRSE A
MICROBIOLOGIA ESPAÑOLA
SERRANO, 113 - MADRID - (ESPAÑA)

Número suelto: 22 pesetas. Suscripción anual (4 números): 80 pesetas.

Microbiología Española

publicada por el Instituto «Jaime Ferrán»
de Microbiología del C. S. I. C. y la Sociedad
de Microbiólogos Españoles

VOL. IV

N.º 1

MCMLI

CONSEJO DE REDACCION

Prof. Dr. don Arnaldo Socías Amorós, Director del Instituto "Jaime Ferrán" de Microbiología del C. S. I. C.

Prof. Dr. don Lorenzo Vilas López, Secretario de la Sociedad de Microbiólogos Españoles.

Dr. don Ricardo Salaya León, Bibliotecario de la Sociedad de Microbiólogos Españoles.

GRAFICAS TEJARIO, S. A. Plaza del Biombo, 4. Teléfono 22 12 88. MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA DE LEON
CATEDRA DE BACTERIOLOGIA

«CORYNEBACTERIUM RENALE», MIGULA (PIELONEFRITIS BOVINA)

PRIMERA COMUNICACION

Santos Ovejero del Agua.

Con motivo de los análisis bacteriológicos practicados en orines de vacas remitidos a nuestro Laboratorio por el Profesor González Ovejero, encargado de Curso en la Facultad de Veterinaria de León, hemos podido hallar por primera vez en España el Corynebacterium renale, agente productor del proceso clínico de los bovinos, caracterizado por una pielonefritis purulenta.

Nuestro competente colega de esta Facultad, en un detenido estudio clínico de los animales enfermos, había establecido, con las naturales reservas, el diagnóstico de la infección citada, habiéndose confirmado la existencia de la pielonefritis al lograrse el aislamiento e identificación del Corynebacterium renale.

Por nuestra parte consideramos de interés la publicación de este resumen sobre los caracteres morfológicos y biológicos más importantes del germen aislado e identificado, cuyo estudio continuaremos, esperando realizar un amplio trabajo que nos permita contribuir al conocimiento de esta especie bacteriana, cuya presencia pone de manifiesto la existencia en nuestra Patria de una nueva entidad nosológica, la Pielonefritis bovina.

Corynebacterium renale.—Sinonimia: Bacillus renalis bovis (Bollinger y Enderlen, 1890), Bacillus pyelonefritis bovis (Höfflich, Monasth, 1891), Bacterium renale (Migula, 1900), Bacillus renalis (Ernst, 1905) y Corynebacterium renalis bovis (Ernst, 1905).

Identificado primeramente como el agente productor de la pielonefritis bovina por Höfflich y Enderlen (1890), fué estudiado más tarde en sus caracteres por Ernst (1905-1906).

Jones y Little en 1928, W. Schelafli (1929) y Merchant (1930), al ocuparse de la pielonefritis bovina, realizan un estudio incompleto de este agente bacteriano aislado por nosotros en algunos casos de la infección renal de los bovinos.

DESCRIPCION DEL CORYNEBACTERIUM RENALE AISLADO EN ESPAÑA

Morfología.—En cultivos de veinticuatro horas en medio líquido, se presenta en formas bacilares cortas y gruesas, de tamaño variable, con extremos redondeados, agrupándose en masas bacilares típicas, constituyendo verdaderas empalizadas características de este género microbiano.

En medio sólido y en cultivos de veinticuatro-cuarenta y ocho horas, el C. renale aparece con morfología bacilar típica, presentando formas alargadas que miden 4 a 6μ de longitud por 0,4-0,6μ de diámetro. Los gérmenes aparecen aislados o en grupos pequeños, rectos o ligeramente incurvados y con los extremos redondeados.

En el sedimento urinario y por bacterioscopia previa coloración, se observan abundantes bacterias que se agrupan en masas irregulares, en las que se integran gérmenes con un tamaño medio de 2-4μ de longitud por 0,3-0,5μ de diámetro.

Inmóvil, no posee flagelos, esporos ni cápsula.

Coloración.—Toma fuertemente el Gram, se colorea con las anilinas utilizadas corrientemente en bacteriología, presentando una tinción irregular más fuerte en algunas zonas del soma bacteriano

Por el método de coloración de Albert, utilizado por nosotros, hemos puesto en evidencia la presencia de granulaciones metacromáticas que aparecen como condensaciones granulares endoplásmicas de color negro poco intenso.

Cultivo.—En aerobiosis, a temperaturas de 36,5° a 37,5°, en medios de cultivo ordinarios enriquecidos con proteínas animales (sangre o suero sanguíneo), con un pH de 7,2 a 7,6, se logra un crecimiento normal en veinticuatro horas.

En relación con sus necesidades respiratorias, el C. renale es aerobio y anaerobio facultativo, observándose crecimiento en las zonas media y superior del agar blando sembrado en profundidad

En caldo-suero equino a las veinticuatro horas de estufa, se observa un ligero enturbiamiento del medio depositándose el cultivo en el fondo del tubo donde forma un sedimento blanco amarillento con aclaramiento del medio a las cuarenta y ocho horas.

En agar-suero aparecen a las veinticuatro horas colonias pequeñas, convexas, lisas, translúcidas, primero, y más tarde, blanco amarillentas, llegando a un tamaño de 1 mm. de diámetro aproximadamente. En los cultivos de varios días el aspecto de las colonias se modifica, tomando un aspecto seco y blanco grisáceo.

Propiedades fermentativas.—En medios de cultivo líquidos, a los que se incorporan la serie de Carbohidratos y Alcoholes, el C. renale provoca las modificaciones siguientes: Fermenta con producción de ácido sin gas la Glu-

cosa y la Maltosa. El carácter fermentativo sobre la Maltosa difiere de la descripción tipo aceptada por la Comisión de Bacteriólogos americanos, según los caracteres publicados en el Manual de Bergey (Sexta edición 1948). No produce ninguna fermentación apreciable en los siguientes carbohidratos y alcoholes: Arabinosa, Rhamnosa, Xylosa, Levulosa, Sorbosa, Galactosa, Lactosa, Sacarosa, Celobiosa, Rafinosa, Inulina, Manita, Sorbita, Dulcita e Inosita.

Propiedades proteolíticas.—En gelatina, por picadura a 37°, no produce licuación después de cuatro días.

En agua de peptona no produce indol.

En suero coagulado, crece bien, formando colonias blanco-amarillentas, sin licuar el medio.

Propiedades reductoras.—En agar-suero con Telurito potásico al 1:100 forma colonias de color negro azabache, brillantes, lisas, convexas, y de borde regular. Reduce esta sal formando compuestos metálicos al igual que otras especies del género Corynebacterium.

No reduce los nitratos a nitritos.

Toxinas.—Los filtrados de cultivos no son tóxicos para los animales de laboratorio (ratón, cobayo, palomo).

Hemolisinas.—No produce hemolisis en placas de agar sangre de conejo al 5 por 100, observándose a las veinticuatro horas colonias blanco-grisáceas.

Otros caracteres.—Reacción de Voges-Boskauer: positiva. Reacción de Rojo metilo: negativa. Medio de Kosser (citrato): no hay crecimiento.

En el agar al verde brillante más 10 por 100 de suero (agar-lactosa más Rojo fenol y Verde brillante), crece a las cuarenta y ocho a setenta y dos horas, haciendo virar el medio con aparición de colonias rojas de 1 a 2 mm. de diámetro, de aspecto parecido a las del Gen. Salmonella.

Acción patógena experimental.—Inoculado en cultivo de cuarenta y ocho horas en caldo-suero a los animales de laboratorio, se obtienen los siguientes resultados:

No es patógeno para el ratón blanco por las vías intravenosa, intraperitoneal ni hipodérmica a las dosis de 0,2 c. c.

No es patógeno para el cobayo por las vías intraperitoneal ni hipodérmica a la dosis de 0,5 c. c.

No es patógeno para el palomo por vía intramuscular a la dosis de 0,5 c. c.

No es patógeno para el conejo común por las vías intravenosa e intraperitoneal a la dosis de 1 c. c.

Sensibilidad a los antibióticos.

Como ensayo inicial, cuyos resultados deben aceptarse con las obligadas reservas, hemos practicado algunas pruebas para conocer la sensibilidad del Corynebacterium renale frente a los dos antibióticos de mayor uso

en nuestra Patria. A pesar de que las condiciones del trabajo no permiten llegar a conclusiones definitivas, estimamos de interés los resultados logrados, que señalan la acción bacteriostática o bactericida de la Penicilina y de la Estreptomicina frente al C. renale aislado por nosotros.

En los ensayos con Penicilina hemos utilizado el método de los pocillos del Profesor Fleming (1942), practicando excavaciones sobre la capa de agar depositada en la placa de Petri, colocando unas gotas del mismo medio de cultivo sobre el fondo de estas pequeñas cavidades. El medio utilizado ha sido agar al 1,5 por 100, con un pH. de 7,6 a 7,8.

Asimismo hemos ensayado el método de las diluciones utilizando tubos con 10 c. c. de caldo común, más suero equino con un pH. de 7,6.

Los resultados logrados en nuestras pruebas iniciales han sido los siguientes:

Método de los pocillos de Fleming C. renale ...	0,1	de U. O.	zona de inhibición	25 mm.	de diámetro.
	1	»	»	»	37 mm.	»
	10	»	»	»	51 mm.	»
Método de los pocillos Estafilococo patrón...	0,1	»	»	»	20 mm.	»
	1	»	»	»	20 mm.	»
	10	»	»	»	40 mm.	»

En caldo se inhibe el crecimiento con 0,4 U. O. en 10 c. c. de medio. Las siembras han sido practicadas en todos los casos con cultivos de veinticuatro horas en medio líquido.

Utilizando la Estreptomicina hemos obtenido los resultados siguientes:

En placa	1 γ No hay inhibición del crecimiento.
	10 γ Zona de inhibición 11 mm. de diámetro.
	100 γ Zona de inhibición 40 mm. de diámetro.

En medio líquido 2 γ por c. c. inhiben el crecimiento del Corynebacterium renale.

RESUMEN

Con motivo de los análisis bacteriológicos efectuados en orinas de vacas ha sido hallado por primera vez en España el Corynebacterium renale, confirmándose así la existencia de la pielonefritis en los bovinos del país. Se describe el Corynebacterium aislado, dando a conocer sus caracteres morfológicos y biológicos más importantes. Inoculado en cultivos de cuarenta y ocho horas en caldo-suero, a los animales de laboratorio, se encuentra no es patógeno, en general, para ellos. Ensayos iniciales señalan la acción bacteriostática o bactericida de la penicilina y estreptomicina frente al germen de que se trata.

SUMMARY

Carrying out bacteriological analysis of bovine urine, Corynebacterium renale was found for the first time in Spanish cattle. Thus the existence of pyelonephritis is proved. The isolated Corynebacterium is described and its most important morphological and biological characteristics are shown. Inoculations in the laboratory animals with a culture of 48 hours in bróth-serum show its nonpatogenicity for them The first tests sow the bacteriostatic or bactericide action of peniciline and streptomycine on the germ in question.

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/international-microbiology_1951_4_1

INSTITUTO DE EDAFOLOGIA Y FISIOLOGIA VEGETAL
SECCION DE MICROBIOLOGIA DE GRANADA
C. S. I. C.

FLORA AEROBIA DE LA FERMENTACION EN EL ENRIADO EXPERIMENTAL DEL ESPARTO

Vicente Callao y José Vigaray

Hasta el momento actual se han estudiado muy deficientemente los fenómenos que ocurren en el enriamiento del esparto, cuyo procedimiento industrial, en nuestro país, es fundamentalmente el mismo que se usaba en el pasado siglo, sin que haya sido mejorado ni modificado, como podemos observar en la somera descripción que da la obra de Higiene de Monlau (4).

Así como los procesos de enriamiento del cáñamo y del lino han sido objeto de diversos trabajos experimentales, resumidos en las obras de Thaysen y Bunker (5), Fuller y Norman (2) y Greenhill y Couchman (3), han sido muy escasas las investigaciones que se han llevado a cabo en el esparto, seguramente porque el área de su industria reside en los países de la cuenca mediterránea y por ello no ha interesado a los investigadores de los países externos a la misma y que precisamente son los que van a la cabeza del progreso industrial.

Nos hemos propuesto estudiar los fenómenos bacteriológicos y bioquímicos que ocurren en el enriado de esta fibra, y en esta primera comunicación exponemos los resultados conseguidos experimentalmente en el Laboratorio, en relación con la flora aerobia y facultativa que interviene en el proceso.

MATERIAL Y METODOS

Esparto y su preparación.—El esparto utilizado procede de las provincias de Almería y Málaga. La operación del enriado se ha llevado a cabo cortando las fibras vegetales en trozos de unos cinco centímetros, con los que se preparan hacecillos de unos quince gramos de peso, aproximadamente, los cuales se depositan apilados hasta llenar un cristalizador de unos ocho litros, colocando piedras en su parte superior, para conseguir una inmersión perfecta, utilizando agua de la ciudad de Granada y temperaturas de entre 15° y 24° que eran las del ambiente en las fechas del experimento. Diariamente se extraían 250 ml. de agua que se reponían en la misma cantidad con agua fresca del grifo, aumentada con la cifra requerida para compensar las pérdidas ocasionadas por la evaporación.

Las tomas del material se realizaron con los métodos ordinarios para efectuar el aislamiento en placa de los microbios aerobios y anaerobios facultativos.

Medios de cultivo.—Se han usado dos tipos diferentes: Medios de aislamiento y medios de identificación y conservación. Como medio de aislamiento se ha ideado uno de agar-esparto preparado con el 3 por 100 de Agar-agar y una concentración salina del 5 por 1.000. Para aislamiento y enriquecimiento de facultativos, se usó el líquido de esparto a la misma concentración salina del anterior, pero sin agar.

Como medios de conservación se han usado los ordinarios y el agar-esparto y para la identificación se han usado las técnicas bacteriológicas comunes.

RESULTADOS

Se han realizado cuatro experiencias en total con espartos diferentes de las provincias antedichas con resultados aproximadamente iguales en las cuatro experiencias y un tiempo total de veintitrés días.

A las veinticuatro horas apareció coloreada de amarillo verdoso y con un aspecto sucio el agua del macerado, la cual desprendía olor desagradable y bastante penetrante que persistió intensamente durante cuatro o cinco días, desapareciendo poco después para no presentarse más a lo largo del proceso. A las cuarenta y ocho horas se observó la aparición de una película fina y muy frágil, constituída por gérmenes bacterianos, con predominio de bacilos Gram negativos y un número escaso de gérmenes Gram positivos. Tres días después se formaron sobre este velo unos islotes de otra película más gruesa, densa, arrugada y de color negruzco que invadieron, por fin, la superfice total. Al mismo tiempo, las formas Gram negativas eran desplazadas por los gérmenes Gram positivos. Algunos protozoos hicieron su aparición en este tiempo.

Las siembras realizadas pusieron de manifiesto los siguientes gérmenes:

Germen núm. 1.—Bacilo Gram negativo (fig. 1). Que en Agar-esparto da colonias transparentes, brillantes, lisas y ligeramente convexas, de unos dos milímetros de diámetro aproximado a las cuarenta y ocho horas. Es móvil, con un solo flagelo polar (fig. 2), cultiva bien en los medios ordinarios, licúa la gelatina en forma de saco, fermenta la glucosa y la maltosa con desprendimiento de ácidos y no la lactosa y la sacarosa. No ataca los nitratos ni forma indol. La descripción es casi idéntica a la que se da en el Bergey (1) para el *Pseudomonas frági*.

Germen núm. 2.—(Figs. 3 y 4) Bacilos Gram negativos, móviles por medio de flagelos lofotricos en número de dos a cuatro. En Agar- esparto forma colonias opacas y cremosas con el borde ligeramente ondulado y pigmento amarillo-verdoso que difunde por el medio de cultivo. En medio líquido forma velo. Licúa la gelatina y fermenta con ácidos la glucosa, lactosa y sacarosa y no la maltosa. Produce bastante amoníaco. Por sus características morfológicas y de cultivo se

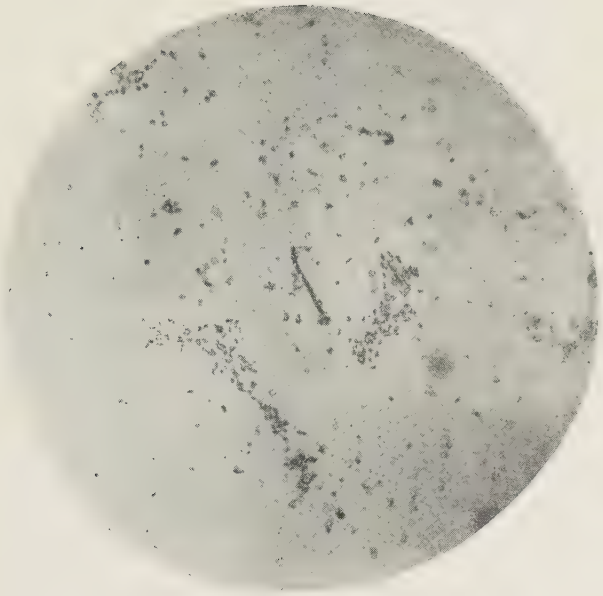


Fig. 1.—Pseudomonas fragi. *Cultivo de veinticuatro horas sobre agar-esparto a 28°.*

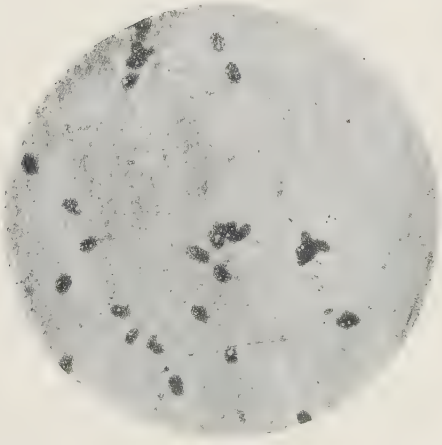


Fig. 2.—Pseudomonas fragi. *Tinción de flagelos.*

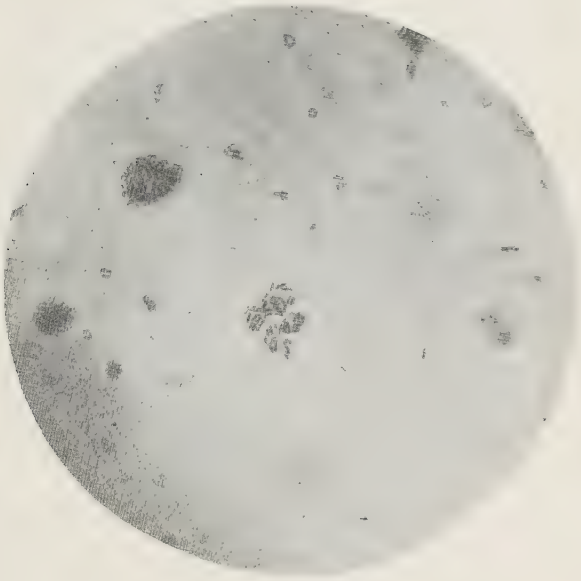


Fig. 3.—Pseudomonas sp. *Cultivo de veinticuatro horas sobre agar-esparto a 28°.*

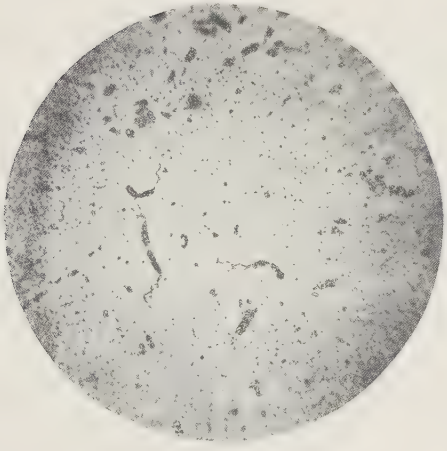


Fig. 4.—Pseudomonas sp. *Tinción de flagelos.*

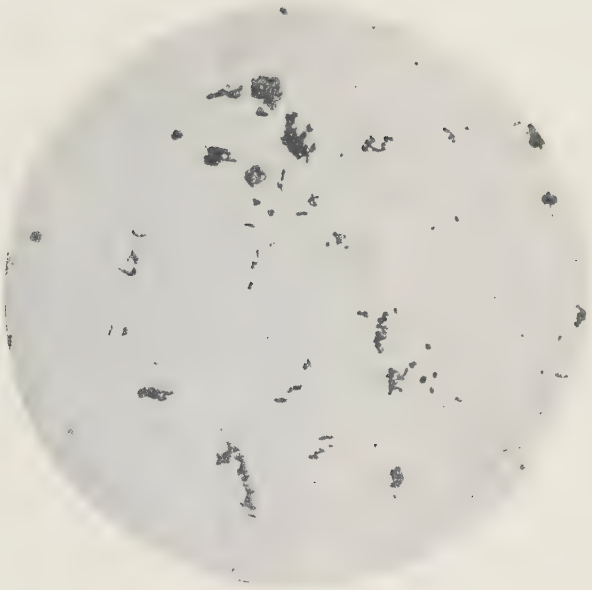


Fig. 5.—Bacterium lactericeum. *Cultivo de veinticuatro horas en agar-esparto a 28°.*

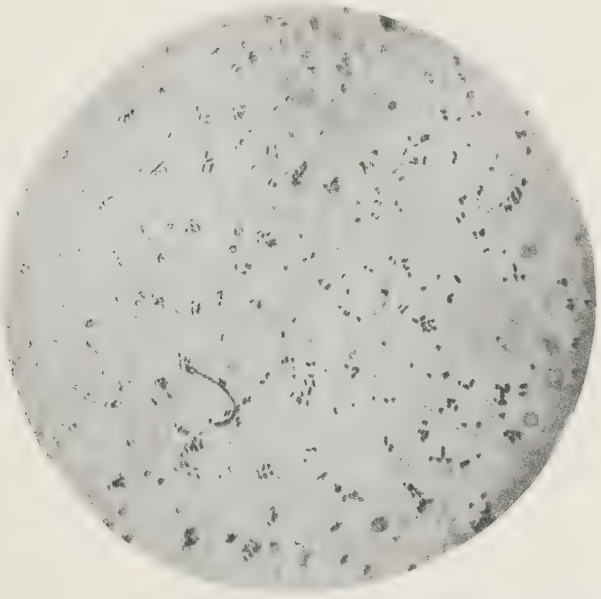


Fig. 6.—Cultivo de Proteus vulgaris *en agar-esparto, veinticuatro horas a 28°.*

Fig. 7.—Proteus vulgaris. *Tinción de flagelos.*

Fig. 8.—Bacillus subtilis. *Cultivo de veinticuatro horas en agar-esparto a 28°.*

parece algo al descrito en el Manual de Bergey con el nombre de Pseudomonas fairmountensis, pero no encuadra completamente con la descripción que da allí para tal germen.

Germen núm. 3.—Coco Gram positivo, primero ligeramente móvil, y luego inmóvil, que se desarrolla en agar-esparto, dando lugar a colonias pequeñas y opacas con una coloración amarillo-limón bastante pronunciada.

Por los caracteres de cultivo y bioquímicos se ha identificado con la especie Microccus varians.

Germen núm. 4.—Bacilo Gram negativo, inmóvil, esbelto y alargado, que forma colonias pequeñas en agar-esparto. Crece en el caldo, enturbiando y formando sedimento ligero. En gelatina forma una colonia amarilla que en picadura se produce solamente en la superficie del medio. No fermenta la glucosa ni ningún otro azúcar probado, no forma indol, no reduce los nitratos y produce amoníaco. Se trata de una bacteria del género Bacterium, sin que al parecer haya sido descrita hasta el momento. Se parece algo a la que en el Manual de Bergey se confirma con el nombre de Bacterium lucrosum.

Germen núm. 5.—Bacilo Gram negativo (fig. 5), corto, que en agar-esparto forma colonias redondeadas con cromogénesis rojas intensas. Por sus características morfológicas y bioquímicas se ha identificado como Bacterium lactericeum.

Germen núm. 6.—(Figs. 6 y 7) Bacilo Gram negativo, aislado, polimorfo y con flagelos peritricos. Crece en agar-esparto, formando colonias transparentes. Sus características de cultivo y bioquímicas son las de la especie Proteus vulgaris.

Germen núm. 7.—Bacilo Gram positivo (fig. 8), móvil, con flagelos peritricos y esporulados que crecen en agar-esparto, formando colonias opacas algo planas y rugosas. Ha sido identicado como Bacillus subtilis.

Germen núm. 8.—Bacilo Gram negativo, relativamente largo y agrupado a manera de los Corynebacterium. En agar-esparto se desarrolla formando colonias transparentes y algo azuladas. No licúa la gelatina. En caldo enturbia y forma un velo fino. Fermenta la glucosa poco y tardíamente y no actúa en los otros azúcares probados. No forma indol. No actúa en los otros azúcares probados. No forma indol. No actúa sobre los nitratos. Encuadramos este germen en el género Bacterium, aunque sin relación entre las especies descritas en el Manual de Bergey.

DISCUSION

Anteriormente hemos descrito las especies aisladas en las aguas de macerado del esparto en nuestro Laboratorio, usando un medio especial a base de esta planta. Pertenecen a los géneros Pseudomonas, Bacterium, Micrococus, Bacillus y Proteus y pueden considerarse como in-

terventoras en un grado mayor o menor del proceso del enriamiento. En efecto, estos gérmenes son capaces de desarrollarse en un medio de cultivo que contenga esparto como único material orgánico utilizable, creciendo allí con formación de colonias diferenciables y desenvolviéndose después perfectamente durante un número indefinido de resiembras en este mismo medio. Los microbios que se desarrollan en el medio con esparto son capaces de subvenir a todas sus necesidades metabólicas, usando los constituyentes del vegetal para tal fin, y ello quiere decir que son capaces de actuar sobre las sustancias que componen esta fibra, sea cualquiera la forma en que allí se encuentren, ya reunidos, ya aislados, es decir, sobre uno o varios de los elementos formados de la fibra que han de utilizar para el ejercicio de sus actividades vitales, descomponiéndolo por la secreción de sus enzimas específicos de constitución o de adaptación.

Por estas razones consideramos no es aventurado suponer que los microbios aislados en el medio-esparto, ideado por nosotros, que contiene a este producto como única fuente nutritiva, han de intervenir de una manera efectiva en los procesos de enriamiento, porque del mismo modo que en aquel medio crecen bien, podrán desarrollarse también sobre la misma fibra sumergida, desintegrándola a medida que sean capaces de actuar sus sistemas enzimáticos, productores de las reacciones bioquímicas vitales de semejantes estirpes bacterianas.

Puede ser diferente el modo como actúa cada germen en la descomposición de la planta. En el esparto, como ocurre en cualquier otro vegetal, nos encontramos que sus tallos están formados por la reunión de distintas sustancias, a saber: Proteínas, gomas, celulosas, hemicelulosas, pentosanas, etc., que constituyen la composición de los elementos anatómicos dispuestos ordenadamente en la planta. El proceso del enriamiento consiste en la alteración de la armonía de estas sustancias, a fin de que, en definitiva, se separen los elementos textiles, los cuales están formados preferentemente por celulosas, de los demás que coexisten con ellos en los tallos de la fibra. Los distintos microbios que intervienen en el proceso han de realizar su actuación preferentemente sobre cualquiera de estos componentes o sobre todos ellos, sin que posean la propiedad de atacar la celulosa, porque entonces alterarían el elemento propiamente textil de la fibra.

Si estudiamos las propiedades bacteriológicas de las especies aisladas en estas experiencias, podremos imaginar que los procesos de fermentación del esparto ocurren en cierto modo de diferente manera a lo que sucede en los fenómenos del enriado de otras fibras textiles, como el cáñamo y el lino. Desde los primeros estudios que se hicieron para esclarecer el mecanismo de la fermentación de estas fibras, se conoció que toman una parte primordial los microbios que actúan sobre los glúcidos, es decir, la flora sacarolítica.

En la maceración del esparto, las cosas no ocurren así, y podemos afirmar, en relación con la flora aerobia, que en este trabajo consideramos que las estirpes aisladas, si dejamos aparte el *Proteus*, poseen un poder sacarolítico

escaso. Si además consideramos el hecho de que los análisis químicos efectuados por algunos autores, con objeto de estudiar comparativamente la composición de la fibra esparto antes y después del enriado, no demuestran diferencias notables en el contenido en pentosanas, y teniendo en cuenta que si a estas pentosanas, y en especial hacia las pectinas, se dirige el poder fermentativo de la flora que actúa sobre el cáñamo o lino, por lo que los productos finales del proceso en estas especies vegetales son eminentemente pobres en pentosanas, hemos de concluir, evidentemente, que la flora de la maceración del esparto no actúa de la misma manera. Nuestros hallazgos microbiológicos apoyan esta conclusión, dado el hecho del escaso poder fermentativo sobre los azúcares que tienen las estirpes aisladas.

CONCLUSIONES Y RESUMEN

En un estudio experimental realizado en el Laboratorio se han aislado gérmenes aerobios que parecen tener acción efectiva en la fermentación del esparto, porque son capaces de desarrollarse en un medio de cultivo que contenga esparto como única fuente nutritiva.

Estas bacterias pertenecen a los géneros Pseudomonas, Bacterium, Micrococcus, Bacillus y Proteus de la sistemática de Bergey.

La flora aerobia que interviene en el enriamiento del esparto, en las condiciones experimentales de este trabajo, pose escasas propiedades sacarolíticas.

Se discuten ampliamente los aspectos de su actuación, concluyendo que hay suficientes elementos de juicio para considerar que la fermentación del esparto transcurre con un mecanismo diferente al de las otras fibras textiles estudiadas hasta el presente.

SUMMARY

In an experimental study, carried out in the laboratory, aerobic germs were separated which seem to have an effective action on the fermentation of esparto-grass because they are able to develop in a culture mdium that contains esparto-grass as the only source of food.

These bacteria belong to the genus Pseudomonas Bacterium, Micrococcus, Bacillus and Proteus of Bergey's classification.

The aerobic flora that interferes in the retting of esparto grass in the experimental conditions of this study, possesses scarce saccharolytic properties.

Aspects of their action are discussed and it is concluded that there exist sufficient reasons to suppose that the fermentation of esparto-grass takes place by a process different to that of other textile fibres hitherto studied.

BIBLIOGRAFIA

(1) **BERGEY,** 1948. Manual of Determinative Bacteriology. Baltimore.
(2) **FULLER Y NORMAN, A. C.,** 1946. The reting of Hemp Ames.
(3) **GREENHILL, W. L.** y **COUCHMAN, J. F.,** 1947. The Water reting of Flax. Melbourne.
(4) **MONLAU, P. F.,** 1847. Higiene Pública, II, 530. Barcelona.
(5) **THAYSEN, A. C.** y **BUNKER, H. J.,** 1927. Microbiology of Cellullose, Hemicellullose, Pectine and Gums. London.

LABORATORIO DE LA GRANJA ESCUELA DE AGRICULTURA DE CALDAS DE MONTBUY (BARCELONA)

FUSARIUM SP. SOBRE VICIA FABA (*)

Camilo Torras Casals.

CARACTERES EXTERNOS DE LA ENFERMEDAD

Empezó a notarse en la primavera de 1948, en los campos sembrados de Vicia faba que algunas plantas presentaban aspecto clorótico con un crecimiento débil, presentando rodales casi definidos; en las hojas aparecían unas manchas oscuras. La raíz presentaba los nódulos, propios de las leguminosas, totalmente destruídos, como en estado de putrefacción y sus bacterias no aparecían haciendo «frotis» sobre el porta objetos. En la región del cuello de la planta aparecía una parte necrosada, en su zona cortical, pero que podía invadir, dicha necrosis, el cilindro central en los casos graves. Nuestro material proviene de varios campos de la Granja Escuela de Agricultura de Caldas de Montbuy, de varios campos de la comarca, y de una muestra enviada desde Pollensa (Mallorca).

TOMA DE MATERIAL EN EL CAMPO

Arrancábamos la planta de Vicia faba, con cepellón, colocándolo todo dentro de un recipiente de cristal de boca ancha, que se tapaba con un cristalizador; todo se había esterilizado previamente en autoclave. Una vez en el laboratorio, con unas pinzas y un escalpelo estériles, se extraían partes de la planta que presentaran lesiones ocasionadas por la enfermedad y se repartía en frascos de Erlenmeyer, con unos centímetros cúbicos de agua destilada, también esterilizados en autoclave; de éstos es de donde procedían nuestras siembras para el estudio; el agua destilada evita se sequen los órganos vegetales.

CULTIVOS IN VITRO

Pequeñas porciones, de las que se guardaban en los ya mencionados frascos de Erlenmeyer, eran sumergidas en caldo de zanahoria, con un 2 por 100

(*) Comunicación presentada en la Sección de Barcelona de la S. M. E.

de sacarosa; en cuanto el líquido presentaba enturbiamiento, se sembró a partir de aquí, sobre una cápsula de Petri con el mismo medio de zanahoria gelatinado, en donde aparecieron unas colonias blancas de las que ya se pudieron observar conidios tabicados. A continuación pasamos a describir el microorganismo según un orden establecido por George Smith en su obra.

DESCRIPCION

Rapidez de crecimiento.—En catorce días consiguió la colonia los 9 cms. de diámetro, con los bordes ondulados.

Color: Blanco algodonoso en la superficie, aunque en un principio es incolora; el reverso de la colonia, también se presenta blanco amarillento y queda bastante incrustada en el medio sólido. Cuando la colonia es muy vieja oscurece hasta quedar gris y casi negro.

El medio de zanahoria acostumbra a oscurecer con el tiempo; en otros no varía.

Forma de la superficie de la colonia: Primero es muy llana, pero luego aparecen diversos fenómenos; así, al cabo de dos semanas, se ven unos pequeños tubérculos, que identificamos como esporodoquios; donde los pudimos ver mejor fué en cultivo, sobre un trozo de zanahoria humedecida con su mismo jugo; primero, la superficie era reluciente, como grasienta, y más tarde aparecían unos gránulos blanquecinos, que no eran otra cosa que esporodoquios.

Si de un medio líquido se toma, con el asa, una pequeña cantidad para sembrar un tubo inclinado de Agar-Brown, forma unas colonias pequeñas circulares, muy parecidas a las colonias de bacterias. Sembrando, en cambio, una pequeña porción de micelio sin esporas, aparecen colonias que se ve claramente que son de un hongo hifal y la producción de esporas tarda un tiempo variable en tener lugar.

Olor: Todos los cultivos acusan un ligero olor a moho, en todas las edades de cultivo.

Transpiración: Es muy escaso el líquido transpirado por nuestros cultivos, la formación de gotas es casi nula.

Caracteres microscópicos.

Diferencia entre las hifas aéreas y las sumergidas: Las primeras parecen tener las paredes más gruesas, pero a veces es tan escasa esta diferencia que casi no debe anotarse como dato diferencial. Lo que sí es una característica importante es el micelio sumergido, que sólo da esporas, mientras que el micelio aéreo produce conidióforos y esporas.

El micelio, en medio líquido, forma una capa de un tejido compacto de hifas; en cuanto envejece aparecen los esporodoquios y los conidios.

Formas y dimensiones de los conidios: Hemos de distinguir, además de las esporas, los macroconidios y los microconidios. Los primeros son de unas dimensiones de 40 a 60μ de longitud por 10μ de anchura, falcados, terminados en punta por ambos extremos, típicamente tabicados; pero el número de celdas en que los dividen estos tabiques no es constante; hemos llegado a contar un máximo de seis; son incoloros, pero se tiñen bien por la violeta de genciana al 2 por 100, y los viejos se deforman y se transforman en hialinos; esto parece ser debido a la formación de clamidósporas, según G. Smith; pero en muchos casos suponemos que sólo se trata de un envejecimiento del conidio. Es de hacer notar el marcado dimorfismo que existe entre los conidios de un cultivo joven y los de un cultivo viejo; mientras aquéllos afectan la forma típica falcada (fig. 1) con los extremos puntiagudos, los que proceden de un cultivo antiguo toman la forma de un embutido, casi rectos (figs. 2, 3 y 4), no terminados en punta, o por lo menos, mucho más achatada, apenas si admiten colorante (violeta de genciana), mientras que los de un cultivo reciente absorbían el colorante con tal rapidez, que fué preciso diluirlo a mucho menos del 2 por 100 y dejarlo actuar cierto tiempo, pues de otra forma el conidio impregnado con tal cantidad de colorante queda opaco, sin posibilidad de observar los tabiques.

Fig. 1.—Conidios procedentes de un cultivo joven, obtenido de una planta enferma. 250 aum. (original).

Fig. 2.—Conidios separados del mismo cultivo de la fig. 1, tres semanas después. 250 aum. (original).

Los microconidios son más escasos que los macroconidios y de un tamaño alrededor de las 20μ.; se colorean bien por la violeta de genciana y su forma no es del todo constante, generalmente piriformes. Nosotros sólo los pudimos observar en cultivos viejos.

Cuando la producción de esporas es muy grande se observa una película sobre el medio líquido, formada exclusivamente por esporas, o bien unos abultamientos de apariencia pastosa, que creemos son «pionotes» de que nos habla el ya mencionado George Smith.

CLASIFICACION DEL HONGO

Después de todas las características, que con cierta minuciosidad acabamos de estudiar, del hongo productor de la enfermedad de las habas, no nos cabe la menor duda de que se trata de un organismo del género *Fusarium*, que sus esporodoquios sitúan entre los *Tuberculariáceos*, del orden de los *Hifales* (Syllog. Fung. de Saccardo). Lo único que puede desorientar es la formación de «pionotes»; sobre este particular nos remitimos a la obra de George Smith.

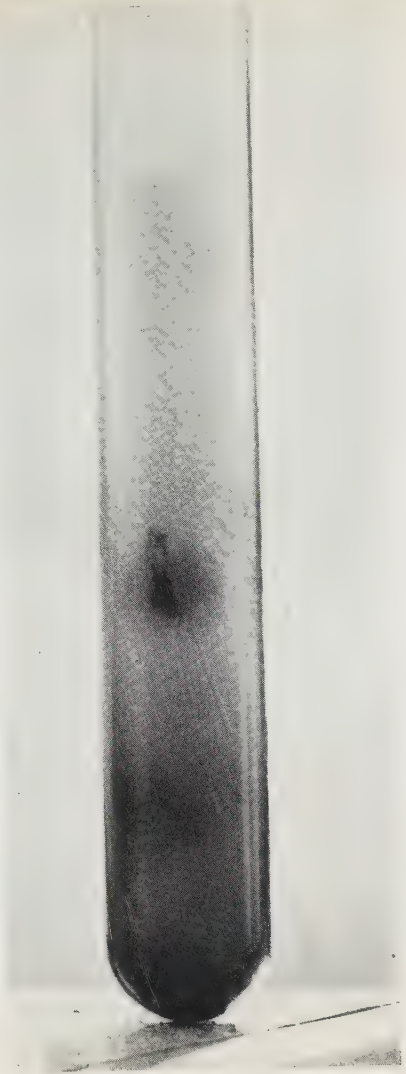
INOCULACIONES EXPERIMENTALES

De los cultivos de *Fusarium sp.*, sobre zanahoria se han hecho inoculaciones sobre plantas jóvenes de *Vicia faba*, por dos procedimientos: por punciones en el cuello de la planta, mediante agujas enmangadas estériles, mojadas en el líquido de cultivo (o en suspensión de esporas procedentes de cultivo en Agar-Brown), o bien regando las macetas con el líquido de cultivo diluído en agua destilada; en el segundo caso, los síntomas de la enfermedad aparecían con más rapidez y seguridad. Con el método de la aguja, la infección también tenía lugar, pero con notable disminución de virulencia, al menos en un principio.

Dispusimos estiércol en cápsulas de Petri, que se esterilizaban en autoclave y se sembraban de Fusarium sp. En las macetas abonadas con este estiércol, un 90 por 100 de las plantas resultaron atacadas; de todo ello dedujimos que la invasión de Fusarium sp. es radical, tal vez por los mismos nódulos de las bacterias radicícolas, cosa que nos dispusimos a comprobar, pero sin resultados concluyentes por el momento.

ESTUDIO DE LAS LESIONES PRODUCIDAS SOBRE LA PLANTA HUESPED

Nos hemos servido, indistintamente, de plantas enfermas procedentes del campo y de plantas inoculadas en el laboratorio; los efectos del *Fusarium* eran los mismos en unas que en otras. Ya hemos indicado, al principio, los síntomas de la enfermedad, que casi se localizan en la parte del vegetal enterrada, excepto las manchas de las hojas y el «enanismo» de los órganos aéreos.



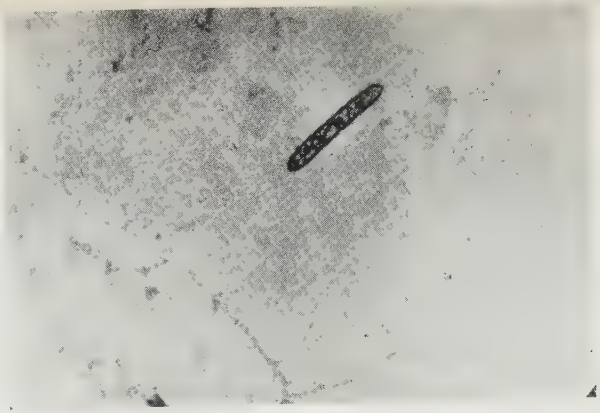


Fig. 3.—Microfotografía de conidios de cultivo viejo. 250 aum.

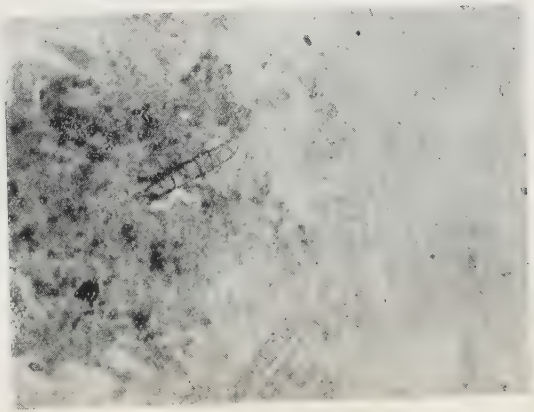


Fig. 4.—Microfotografía de conidios de cultivo

Fig. 5.—Planta enferma, inoculada con cultivo en jugo de zanahoria. (Véanse las punciones en la región del cuello.)

Fig. 6.—Porción de raíz principal de V. faba inoculada, con esporodoquios (x) visibles.

Las raíces más delgadas mueren, los nódulos bacterianos, como ya hemos dicho, quedan necrosados, en algunos casos, sobre la raíz aparecen los esporodoquios visibles (fig. 6), pero donde se puede estudiar mejor la naturaleza del daño es en la región del cuello de la planta. Hemos practicado cortes a mano, de dicha parte del vegetal, para hacer preparaciones, sin colorear, puesto que, montadas en glicerina gelatinizada, ya quedaban lo suficientemente claras para su estudio (véase fig. 7); en la zona cambial, principalmente, se observan hifas que se internan en los elementos vasculares próximos al cambium, o sea en los

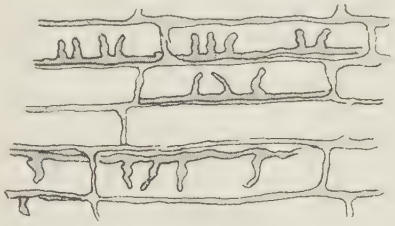


Fig. 7.—Corte longitudinal de la zona cercana al cambium del cuello de una planta atacada.

vasos nuevos, las cuales están provistas de cortas ramificaciones laterales, cuya función será, seguramente, nutrir al hongo parásito de los jugos de la planta huésped. Debe señalarse el fuerte oscurecimiento que experimentan los elementos en contacto con el citado micelio, y las mismas hifas se presentan pardo-oscuras; todo lo cual lo atribuímos al poder oxidante del Fusarium, que más adelante demostraremos.

INVESTIGACIONES BIOQUIMICAS

Se han realizado en los cultivos in vitro la determinación de oxidasas y la producción de glucósidos que brevemente vamos a exponer.

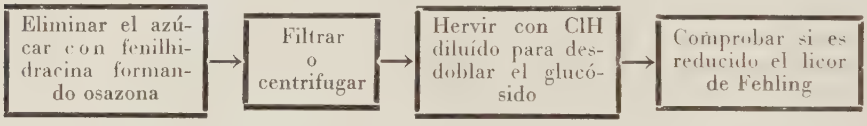
Ensayo de la oxidasa.—El oscurecimiento más arriba apuntado de la porción de planta directamente afectada por el hongo nos hizo sospechar de la producción de fermentos capaces de oxidar algunas sustancias. Para investigar esto seguimos el método de Bavendamm en su trabajo «Uber das vorkommen und den nachweis von Oxydasen bei Holzzerstörenden Pilzen» Ztschr. f. Planzenkrank 1928), que es como sigue: Se prepara un medio de cultivo con las siguientes sustancias:

Maltosa	1,5
Agar-Agar	2,0
Acido gálico...	0,5
Agua destilada	100,0

Todo ello en autoclave a 120° C. durante veinte minutos y distribuído en tubos inclinados o en cápsulas de Petri; y se sembró con una pequeña porción de micelio (véase figura 8); el medio tiene color ambarino diáfano, a las veinticuatro horas; alrededor del micelio transportado aparece una aureola pardo-oscura y al cabo de unos ocho o diez días se oscurece el resto del substratum, dejando una zona clara en las proximidades de la aureola antes mencionada; este fenómeno es debido a que para producir oxidasas es necesaria cierta abundancia de hifas; si no es así, o no se producen o la cantidad es tan ínfima que es insuficiente para presentar reacción; por tanto, el micelio debe tener un grado de ramificación abundante.

Formación de Glucósidos.—En la obra que dirigió Lafar, «Handbuch der Technischen Mycologie», se habla de la producción de glucósidos por algunos microorganismos, y se nos ofreció la posibilidad de que nuestro Fusarium podía ser uno de ellos; no menciona dicha obra el «modus operandi» para llevar a cabo dicha investigación y no conocíamos de momento ninguno, y se procedió como sigue:

Tómese un cultivo viejo del hongo en un medio sintético y que no contenga sacarosa (esto es, para que no exista algún glucósido en un medio vegetal y, además, se sabe que la sacarosa se comporta como un glucósido en las reacciones químicas), y las operaciones a realizar, serán según el siguiente esquema:


Eliminar el azúcar con fenilhidracina formando osazona
Filtrar o centrifugar
Hervir con ClH diluído para desdoblar el glucósido
Comprobar si es reducido el licor de Fehling

El Fusarium fué cultivado en el medio Brown (Glucosa, 2 gr.; asparagina, 2 gr.; $K_3 PO_4$, 1,25 gr.; Mg SO_4, 0,75 gr.; agua, 1 litro) y este cultivo (viejo) fué disuelto en dos veces su volumen de agua destilada y filtrado. Tratado con un exceso de Felilhidracina acética dió los cristales de glucosazona, quedando eliminada la glucosa del medio; después de filtrar se hirvió con ClH diluído, para desdoblar el presunto glucósido en un azúcar y un alcohol, fenol, etc.; identificando luego la presencia de dicho azúcar indicará la existencia de un glucósido. Nuestro caso nos dió una ligera reacción positiva, reduciendo, en parte, al licor de Fehlig, con parte del líquido filtrado sin hervir con ClH diluído y no se redujo el licor de Fehling.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

I. Se puede asegurar que el parásito de V. Faba es un Deuteromiceto hifal del género Fusarium, que presenta en sus órganos de reproducción las modalidades de macroconidio, microconidio y espora.

II. Trasladando, con el asa de platino, esporas en un medio estéril, pasa mucho tiempo hasta que éstas se reproducen sin formación de micelio y a su vez, trasladando micelio, tarda algún tiempo en producir esporas.

III. Existe un marcado dimorfismo entre los conidios de un cultivo joven y los de un cultivo viejo, así como cuanto mayor sea la edad del cultivo, los conidios se colorean más difícilmente, o sea: El poder de coloración de los conidios es inversamente proporcional a la edad del cultivo.

IV. Inoculando cultivos en Vicia faba reproduce la enfermedad y parece ser el aparato radicular el más vulnerable. El estiércol puede ser un medio de difusión de la plaga.

V. Produce oxidasas, que se hacen patentes en cultivos que contienen ácido gálico, así como indicios de glucósidos en medios de cultivo sintéticos.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

1. It may be affirmed that the parasite of V. faba is a hyphal Deuteromycete of the species Fusarium that shows in its organs of reproduction macroconydian, microconydian and spore modalities.

2. If with a platinum handle we place spores in steril medium, a long time is required until they reproduce themselves without mycele formation, and if we transfer mycele a long interval is necessary to produce spores.

3. There exists a notable dimorphism between the conydes of a young culture and of an old one. The older the culture is, the more difficult it is to stain the conydes, that is to say: the colouring power of the conydes is inversely proportional to the age of the culture.

4. When cultures are inoculated in V. faba, the infection is reproduced and the most vulnerable seems to be the radicular apparatus. Manure may be the means of difusion of the plague.

5. Oxidases are produced that may be seen in cultures containing gallic acid, as well as traces of glucosides in synthetic culture-media.

BIBLIOGRAFIA

(1) **BAVENDAMM, W.**—1928. Uber das vorkommen und den Nachweis von Oxidasen bei Holzzerstörenden Pilzen. **Ztschr. f. Pflanzenkrank.** 38: 257-276.

(2) **BROWN, W.** 1925. Studies in the genus Fusarium. II. An analysis of factors which determine the growth-forms of certain strains. **Ann. Bot.** 39: 373-408.

(3) **FERRARIS, Teodoro.** 1930. Patología y terapéutica vegetales. 447-448. Salvat Editores, Barcelona.

(4) **LAFFAR, F.** 1898-1910. Handbuch des Technischen Mycologie. Bd. II. Seiten. 346-347.

(5) **SHIKORRA.** 1906. Fusarium Krankheiten der Leguminosen. Berlin.

(6) **SORAUER, Paul.** 1908. Handbuch der Pflanzenkrankheiten. Dritte auflage, zweiter Bd. S. 466-467. Paul Parey, Berlin.

(7) **SMITH, George.** 1947. An introduction to industrial mycology Pag. 90-97. Edward Arnold, London.

(8) **WOLLENWEBER, H. W. et al.** 1925. Fundamentals for taxonomic studies of Fusarium. **Jour. Agric. Res.** 30: 833-43.

(9) ——— and **REIKING, O. A.** 1935. Die Fusarien. Paul Parey. Berlín.

INSTITUTO "JAIME FERRAN", DE MICROBIOLOGIA
C. S. I. C.

EL FACTOR DE TRANSFORMACION MOHO-BACTERIA

A. Socías y G. Sierra.

Publicamos en 1949 que unas estirpes de Aspergillus amstelodami y Asp. penicilloides las transformábamos, en un medio de cultivo determinado, en Bacillus y Micrococcus (11).

Nos interesa grandemente determinar con la exactitud posible cuál o cuáles son los factores de nutrición capaces de llevar a cabo tal transformación in vitro. En la citada comunicación exponíamos los medios usados a base de pectinas extraídas del albedo de la toronja en las condiciones que detallábamos. El medio usado era preparado principalmente con pectato cálcico. En consecuencia, hacíamos unas consideraciones sobre la naturaleza química de tal sustancia.

Para comenzar el estudio analítico del medio usado, y por no considerar puro nuestro preparado de pectina, ensayamos una del comercio —la Novopectina (Prodesa) de pH 7—. De ella obtuvimos un pectato cálcico que utilizamos en sustitución del de toronja. Pues bien, con este pectato no conseguimos la transformación.

Ensayamos otro producto de naturaleza péctica de origen distinto y a este fin lo preparamos del esparto, según la siguiente fórmula:

Se cortan 250 gramos de esparto en trozos. Se sumergen en un litro de agua y se dejan a la temperatura ambiente —25 grados C.— durante seis días, a fin de que sufran una especie de enriado. Al cabo de este tiempo se llevan a ebullición durante tres o cuatro horas. Se decantan los trozos de esparto y se sumergen en un litro de hidróxido sódico al 4 por 100. Se deja unos días a la temperatura ambiente y luego se hierve durante una hora. Se mezclan los dos extractos y se acidifican a pH 3 con ácido acético. Se le añade un volumen igual de alcohol etílico de 95 grados y da un precipitado que es tratado con ácido sulfúrico al 1 por 100 durante media hora a 120 grados C. Se filtra y se neutraliza.

Al medio de Czapek sólido añadimos el extracto anterior y en él sembramos las conidias de los Asp. citados, dejando que crezcan a 27 grados centigrados. Al mes, ya está bien desarrollado el micelio y las conidias maduras. Estas son sembradas en agar común, y se produjo la transformación.

A fin de analizar cuál es el factor determinante de esta transformación, preparamos el medio anterior con y sin azúcar —glucosa al 1 por 100—, que habíamos añadido al medio de Czapek. No le añadimos agar para solidificarlo. En este medio sembramos en superficie del líquido las conidias procedentes de Czapek maltosa y lo incubamos a 27 grados C. Una vez bien desarrollado el fieltro miceliar y con las conidias maduras, añadimos una tercera parte de caldo común al mismo medio e invertimos el fieltro de hifas, a fin de que las conidias quedasen sumergidas en el medio, y se llevó a 37 grados C. En los tubos con glucosa se dió la transformación; en los que no la tenían no se produce.

De esto dedujimos que los factores están relacionados o con una pectina o una sustancia homóloga y la glucosa como elementos preparadores, y el caldo común como determinante.

Teniendo en cuenta que las pectinas que han dado resultados positivos pueden contener impurezas o elementos de su hidrólisis y siendo los más frecuentes de éstos las pentosas, en especial la xilosa y la arabinosa, hicimos, en consecuencia, pruebas de estos azúcares, que añadíamos a la solución salina de Czapek, y en tal medio sembrábamos los A s p . en las condiciones tantas veces repetidas. Ninguno de estos dos azúcares nos dió la transformación.

Siguiendo en el criterio de que podían ser sustancias que impurificaban las pectinas hicimos una extracción tal que las tuviese en gran abundancia, como sigue:

El albedo de la toronja es extraído con alcohol de 96 grados por sucesivas ebulliciones. El extracto es destilado en baño de vapor hasta consistencia siruposa. Este jarabe, de color rojizo y reacción ácida, contiene todos los componentes solubles en este disolvente: grasas, azúcares, colorantes, ácidos, etcétera. Una vez neutralizado este extracto, lo utilizamos para la prueba de transformación y según las condiciones y procedimientos ya indicados en los otros casos.

En este medio conseguimos la transformación, pero en un porcentaje muy bajo (10 por 100). De aquí dedujimos que no eran precisamente las impurezas las que preparaban al moho para su transformación, ya que el porcentaje obtenido con las pectinas más o menos lavadas es mucho mayor, y, por consiguiente, si hubiesen sido tales impurezas, cuando menos, nos tenían que haber dado un porcentaje igual.

Con todas estas pruebas llegamos a la conclusión de que los factores de la transformación están íntimamente relacionados con las p e c t i n a s y aún más con c i e r t o t i p o d e p e c t i n a s, con la glucosa —y es posible que con otros azúcares— como factores determinantes de un metabolismo especial de los mohos, que los pone en condiciones de transformarse en cuanto son resembrados en agar o en caldo común.

Es sabido que las pectinas son polímeros de ácidos urónicos, y en conse-

cuencia, investigamos si bastaba la presencia de éstos para llevar a cabo la transformación. A este efecto utilizamos el ácido glucurónico y galacturónico por separado, y no obtuvimos resultado alguno.

¿Qué hay, pues, en las pectinas obtenidas de la toronja y del esparto que son capaces de preparar a los Aspergillus para la transformación?

La circunstancia de que el pectato cálcico obtenido de la Novopectina «Prodesa» no diese la transformación, nos hizo pensar en la especificidad de cierta sustancia péctica.

Analizando el pectato cálcico, que por primera vez nos dió la transformación de los Aspergillus en él crecidos, vimos que se trata de pectinato cálcico y no de pectato, como creíamos, puesto que en él comprobamos la presencia de grupos $-CH_3$ del siguiente modo:

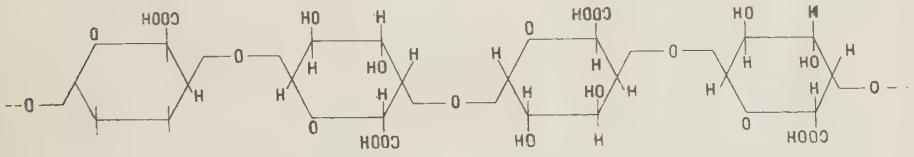
El pectato cálcico, antes del secado, fué liberado de iones metálicos con solución alcohólica acidificada. Lavado y filtrado y en solución al 1 por 100 se lleva a cabo el método Denigés (4).

La presencia en la molécula de grupos metilo —procedentes de la esterificación de algunos grupos —COOH, de la molécula gigante característica de las sustancias pécticas, por alcohol metílico— nos hizo pensar que la transformación estaba relacionada específicamente con los pectinatos.

Creemos oportuno reseñar algunas consideraciones de orden químico sobre los diferentes tipos de sustancias pécticas conocidas bajo el nombre común de pectinas.

Sobre su estructura sólo en época reciente se ha conseguido una visión, gracias a las investigaciones de Félix Ehrlich, K. Link, así como de Henglein y G. G. Schneider. Las determinaciones del peso molecular de las pectinas señalan para éstas un peso molecular muy elevado, que puede alcanzar hasta 250.000.

En realidad existen diferentes tipos de pectinas, pero en todas ellas, como sabemos, el componente fundamental es el ácido anhidrogalacturónico, cuyas moléculas están unidas entre sí por puentes de oxígeno, formando largas cadenas filiformes.



Las moléculas de ácido anhidrogalacturónico que entran en la composición de las pectinas son del tipo de la piranosa y pueden tener sus grupos —COOH esterificados por alcohol metílico, en parte o totalmente.

Y como en el conjunto de la gran molécula de pectina el número de grupos carboxilos esterificados puede variar según el grado de esterificación, también variará la pectina, presentando diferentes propiedades físicoquímicas.

La existencia de grupos metilo puede ser puesta en evidencia, ya que fácilmente los grupos metilos se separan de las pectinas por tratamiento con álcalis diluídos. Con este fundamento, T. von Fellemberg (5) determina los grupos metilo directamente sobre la pectina, evaluados en tanto por ciento de metoxilo; primero saponifica con solución de hidróxido sódico al 2 por 100 y el alcohol metílico liberado lo transforma en éter por tratamiento con ácido sulfúrico al 72 por 100.

Así, pues, las pectinas se caracterizan por su grado de esterificación estimado en metoxilos y por su contenido en ácido galacturónico.

La pectina bruta contiene: Pentanos, galactanos y otros poliurónidos, pero éstos pueden eliminarse por diferentes métodos.

Las pectinas de diferentes orígenes difieren en varias propiedades. Schneider y Bock (10) achacan estas variaciones a diferencias en el tamaño molecular, al grado de esterificación de los grupos carboxilo y a las cantidades y tipos de los poliurónidos que las acompañan.

Las pectinas dan reacción ácida debido a la presencia de grupos —COOH libres, ya que, como dijimos, no todos están esterificados por metanol; por ello el pH de sus soluciones acuosas varía según el número de grupos carboxilos libres. En algunas determinaciones de pH efectuadas en pectinas se hallaron valores que oscilaron entre 2,7 y 5,0 empleando disoluciones acuosas al 1 por 100.

Henglein (6) ha observado que las pectinas, cuando se encuentran libres en solución (frutos y extractos), tienen una mayor proporción de grupos metilos esterificando aquellas en las paredes celulares de las plantas. Esto indica que los grupos carboxilos libres actúan como puentes entre la cadena de pectina y probablemente los grupos carboxilos de otros constituyentes de las paredes celulares como celulosas, arabanos, galactanos, etc.

Los cationes divalentes tales como $\ddot{Ca}$, $\ddot{Mg}$, etc., pueden retener dos grupos carboxilos unidos por uniones iónicas de una manera similar a la conducta

$$\left(\begin{matrix} -COO \\ -COO \end{matrix}\diagdown\diagup Ca\right)$$

de aquellos en los silicatos complejos. De esta manera, el formarse la sal cálcica, el número de grupos ligados aumenta o, lo que es lo mismo, aumenta el número de grupos carboxilos no esterificados; por ello las pectinas difícilmente solubles —geles cálcicos o ácidos— es de esperar que tengan solamente un pequeño contenido de grupos —CH_3, como parece ser el caso.

Diferentes tipos de sustancias pécticas.—Las consideraciones anteriores hacen entrever varios tipos de sustancias pécticas, que teniendo todas común el componente ácido galacturónico presentan diferentes propiedades.

El término pectina, se aplica a la sustancia pectínica, ya aislada de la planta en forma soluble —preparada para el comercio— y de contenido en grupos estermetílicos variables, según su procedencia

La expresión ácido pectínico y pectinatos es usada para los ácidos poligalacturónicos y sus sales, conteniendo una proporción apreciable de grupos metilos esterificando.

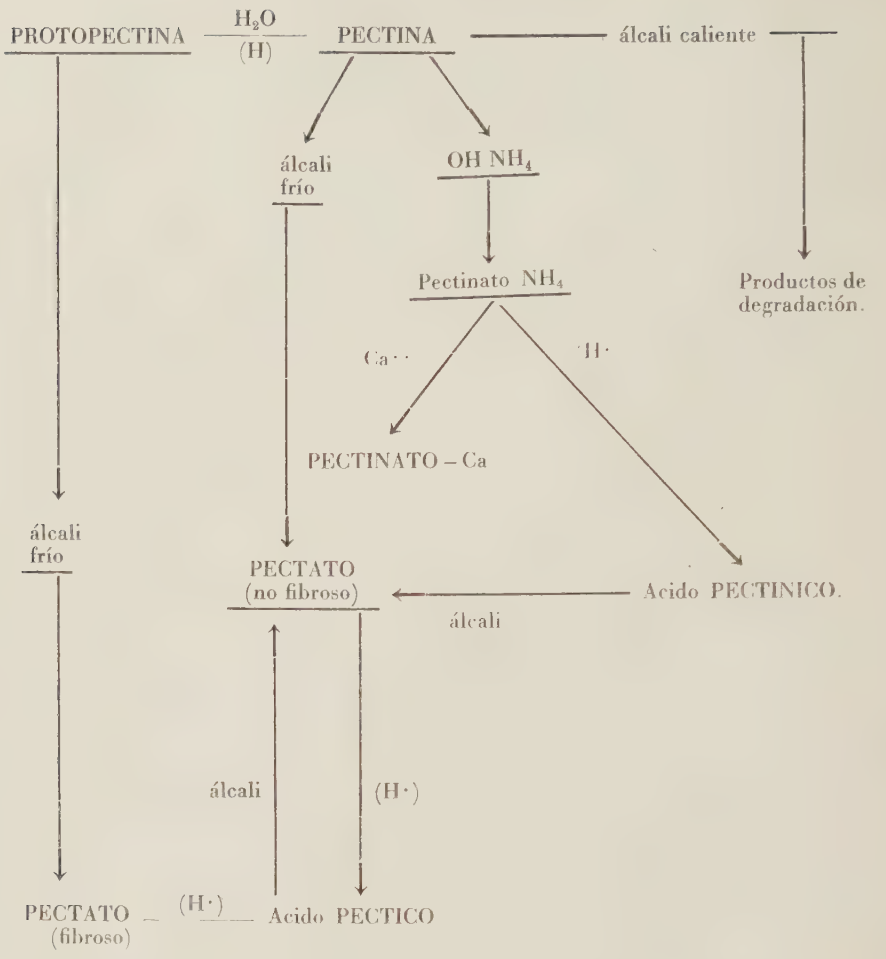
Los ácidos pectínicos, bajo condiciones apropiadas, son capaces de formar geles con azúcares y ácidos. Si es bajo el contenido en metoxilos forma también geles con ciertos iones metálicos; las sales de los ácidos pectínicos son normales o pectinatos ácidos.

El ácido pectínico se encuentra como componente de la protopectina, es decir, está presente en la planta junto con arabanos y otros poliurónidos, de tal forma que el mayor porcentaje de grupos metilo contenidos en una sustancia pectínica procedente de una determinada planta, lo tendremos en la pectina. Por ligera saponificación de la pectina —que puede hacerse por cualquiera de los tres catalizadores saponificantes: ácido, base o pectin-esterasa— se puede obtener ácido pectínico o pectinatos, según que después de esta ligera sapinificación se trate con ácido —formación de gel de ácido pectínico— o con alcohol o solución cálcica para el pectinato. Es necesaria esta ligera desesterificación, puesto que con ella sólo hemos de dejar libres algunos grupos —COOH dejando un porcentaje metilado; han de quedar algunos —COOH libres de metilos para poder formar las sales insolubles o el gel del ácido pectínico

El ácido pectínico totalmente saponificado, por tanto, libre de grupos metilos esterificando o sus sales totalmente saponificadas, responden al término ácido péctico y pectatos.

Teniendo en cuenta la diferenciación fundamental entre ácido péctico —libre de grupos estermetílicos— y ácido pectínico —conteniendo grupos estermetílicos—, veamos la diferencia preparativa entre el método de W. E. Baier (1) para obtener ácido péctico y pectatos de pectinas procedentes de frutos del género Citrus, y el de R. M. McCready (9) para obtener ácido pectínico. La diferencia estriba en que el primero saponifica la pectina con hidróxido sódico y el segundo con amoníaco; saponificación total y parcial, respectivamente.

Podemos resumir lo dicho sobre la preparación de sustancias pectínicas y pécticas partiendo del material pectínico contenido en la planta en la forma protopectina, con el esquema general:



Habiendo admitido por la fuerza de las experiencias expuestas que la transformación del Aspergillus está intimamente ligada a las pectinas y nuestra sospecha de que más concretamente lo estuviese a las sustancias pectínicas, nos propusimos preparar pectinas de frutos del género Citrus, de alta pureza y elevado contenido en grupos —CH_3, y a partir de ellas obtener pectinatos y pectatos y efectuar con ellos la prueba biológica en las mismas condiciones que hemos descrito y con ello concretar el factor determinante de la transformación.

La manera más ventajosa de aislar las sustancias pectínicas es siempre una prolongada ebullición de las partes vegetales con agua. El calentamiento con agua bajo presión acelera la extracción, pero en este caso la pectina, que en principio se había disuelto, se encuentra muy desdoblada. Mucho más rápidamente entra la pectina en disolución calentando con ácidos diluídos, pero, in-

cluso los ácidos orgánicos, obran aquí produciendo un fuerte desdoblamiento de la sustancia primitiva. No obstante, Bourquelot y Herissey (2) extraen la pectina con agua a 110-125° C y bastante más recientemente K. P. Link y R. Neddon (8) obtienen pectina por extracción ácida.

Teniendo en cuenta las mejores condiciones para nuestros propósitos, efectuamos la siguiente técnica:

Utilizamos como materia de partida 275 grs. de albedo de toronja desmenuzado. Dicha cantidad es tratada con agua a la temperatura ambiente con agitaciones de cuando en cuando y renovando el agua varias veces, hasta que ésta no tome color por el contacto prolongado con el material — esto sucede al cuarto tratamiento—.

A continuación se hierve a reflujo la materia prima repetidas veces con alcohol y posteriormente con éter. Con ello hemos separado todos los componentes solubles en estos disolventes, como colorantes, grasas, azúcares, ácidos, etc. Después de este tratamiento, el material queda completamente blanco.

El albedo así preparado sirve para la obtención de la cantidad principal de pectina.

Entonces se hierve dicho material, cinco o seis veces, durante dos horas cada vez, con diez veces aproximadamente su cantidad de agua, con lo que se consigue que la pectina se disuelva. Los extractos se reúnen, se filtran y clarifican —con tierra adsorbente— y se evaporan a sequedad muy lentamente. utilizando baño de vapor. La pectina obtenida de este modo tiene un color pardoclaro y está constituída fundamentalmente por una mezcla de arabanos y ácido pectínico, conteniendo también pequeñas cantidades de sales cálcico-magnésicas, azúcares y ácidos. La pectina obtenida se seca a 37° C.; una vez seca, se pulveriza.

Siguiendo el proceso descrito hemos obtenido una pectina comercial con demasiadas impurezas para nuestras exigencias.

El arabán se extrae hirviendo con alcohol al 70 por 100 durante diez horas a reflujo, según procedimiento de G. H. Beaben y E. L. Hirst (3).

Teniendo en cuenta las mejores condiciones de purificación de las pectinas, estudiadas recientemente por Lampitt, Moneg, Judge y Ure (7), una disolución acuosa de esta pectina se dializa a través de membrana de celofán, precipitando la pectina de la dis. acuosa por alcohol al 70 por 100, con lo cual se han eliminado completamente azúcares, ácidos, etc., junto con las sales inorgánicas, ya que la pectina precipitada, al ser calcinada, no deja residuos apreciables. Podemos, pues, considerar a este gel como ácido pectínico suficientemente puro.

Una disolución acuosa al 1 por 100 de este gel pectínico secado tiene un pH. de 5; no precipita con las sales de calcio, ni forma gel con los ácidos; propiedades todas ellas que nos indican el elevado contenido de grupos $-CH_3$ esterificando los grupos -COOH de la pectina preparada.

Partiendo de esta pectina, preparamos soluciones de pectinato y pectato sódico al 1 por 100.

Para la preparación de la solución de pectinato sódico de elevado contenido en grupos metoxilos es suficiente con neutralizar una sol. al 1 por 100 del ácido pectínico —pH. 5— con unas gotas de sosa diluída.

Para la preparación de la solución de pectato sódico seguimos el camino siguiente:

1,5 grs. de la pectina preparada se disuelven en 100 c. c. de agua hirviente; una vez frío, se saponifica con 15 c. c. de sosa N/2 durante una noche; a continuación se caliente a 60° C. en baño de agua, con lo cual la saponificación es completa. Esta solución se vierte sobre ácido sulfúrico (dil), y el gel formado de ácido péctico se separa de las aguas ácidas por filtración y se lava repetidas veces con agua acidulada. Se seca a 37° C.

Una vez seco, se hace la disolución al 1 por 100 y se procede a la neutralización exactamente igual que para la preparación del pectinato

Con estas soluciones, pectinato sódico y pectato sódico, se preparan los siguientes medios de cultivo:

1) Pectato sódico.
   Agar común.

2) Pectato sódico.
   Glucosa.
   Agar común.

3) Pectinato sódico.
   Agar común.

4) Pectinato sódico.
   Glucosa.
   Agar común

Se reparten en suficientes tubos para cada medio, se inclinan, se siembran los A s p . y se dejan crecer a 37° C.

A los tres meses, aproximadamente, de desarrollado y maduro el moho, las conidias procedentes de estos medios se resiembran en agar común.

De los cuatro medios utilizados, únicamente han dado la transformación las conidias procedentes del medio cuatro y en un porcentaje de 95 por 100.

RESUMEN

a) El agente causante de la transformación moho-bacteria es el pectinato, ya que el pectato, en idénticas condiciones, no dió la transformación. La diferencia fundamental entre un pectinato y un pectato no es más que ser el primero un derivado metilado del segundo. Al no producir el pectato la transformación, la acción del pectinato hay que atribuirla a la existencia de grupos metilo.

b) El pectinato actúa a través de la glucosa.

c) Estos factores preparan el Aspergillus para la transformación, pero luego ésta se da sobre el agar común a 37°.

SUMMARY

a) The agent which produces the mold-bacteria transformation is the pectinate, as the pectate in identical conditions did not produce the transformation. The fundamental difference between a pectinate and a pectate consists in the fact that the former is a methyl derivate of the latter. As the pectate does not cause the transformation, the action of the pectinate must be attributed to the presence of methyl groups.

b) The pectinate acts through glucose.

c) These factors prepare the Aspergillus for the transformation, but afterwards the transformation takes place on common agar at 37° C.

BIBLIOGRAFIA

(1) BAIER, W. E. y WILSON. 1941. Ind. Eng. Chem. 33: 287.

(2) BAURQUELOT y HERISSÉY. 1898. Jour. Pharmac. Chim. 7: 474.

(3) BEABEN, G. H. y HIERST. 1939. J. Chem. Soc. 80: 1.865.

(4) DENIGES, M. G. 1910. Compt. Rend. 150: 529.

(5) FELLEMBERG, T. von. 1918. Biochem. Z. 85: 44.

(6) HENGLEIN, F. A. 1943. J. Macromol. Chem. 1: 121.

(7) LAMPITT, MONEG, JUDGE y URIE. 1948. J. Soc. Chem. Ind. 66: 121.

(8) LINK, K. P. y NEDDON. 1931-32. J. Biol. Chem. 94: 307.

(9) McCEADY, R. M. y OWENS, H. S. y col. 1946. Ind. Eng. Chem. 38: 1.254.

(10) SCHNEIDER, G. G. y BACK. 1937. Ber. 70: 1.617.

(11) SOCIAS, A. 1949. Anal. Edaf. VIII: 243.

INSTITUTO "JAIME FERRAN", DE MICROBIOLOGIA
C. S. I. C.

DE LA METILACION ORGANICA COMO FACTOR DE TRANSFORMACION MOHO-BACTERIA Y SU PAPEL EN LA ETIOLOGIA MICROBIANA DEL TRACOMA

A. Socías.

Según hemos dicho en nuestros trabajos sobre la epidemiología del tracoma, y en especial hemos resumido en una reciente comunicación (6), durante años, basándonos en los datos aportados por tales estudios epidemiológicos, estuvimos ante la expectativa de que muy posiblemente el agente etiológico de la enfermedad podía estar íntimamente relacionado con los mohos.

En una publicación del año 1950 (5) estudiamos los microorganismos que se pueden obtener, según los métodos clásicos del laboratorio, de las siembras del contenido patológico de las granulaciones de una conjuntiva tracomatosa Entre estos organismos encontramos, en efecto, un moho que resulta ser el Aspergillus amstelodami o su forma imperfecta el Asp. penicilloides.

En otra comunicación anterior —1944 (3)— dimos a conocer la existencia en los cortes y frotis de tales granulaciones de unas células que hasta entonces todos los autores las clasificaban como pertenecientes a los tejidos humanos y, en particular, a las que suelen encontrarse en los granulomas o en las formaciones de naturaleza linfoide, al menos en su origen. Nosotros, en cambio, las interpretamos como correspondientes al parásito. Consideramos que la naturaleza del parásito corresponde a la de los Fungi.

Posteriormente, en 1950 (8), hemos publicado un trabajo sobre histología de tales lesiones tracomatosas, y en todas ellas encontramos unas células correspondientes a las del anterior estudio, las cuales, mediante un procedimiento de tinción, se demuestra que son de naturaleza micósica y no correspondientes a las células de la conjuntiva normal o patológica. En un caso especial no cabe lugar a duda sobre esta afirmación. Además, estas formas a modo de pseudo-células-conjuntivales que se observan son de tal pleomorfismo que nos ilustraron grandemente para generalizar nuestra afirmación y servirnos de guía en nuestras investigaciones.

Del estudio de la microbiología de tales lesiones aislamos varios tipos de microorganismos bacterianos (5), y por el pleomorfismo antes indicado llegamos a la hipótesis de que en las lesiones tracomatosas existía un Aspergillus

capaz de dar lugar a formas bacterianas, constituyendo en conjunto un ciclo vital pleomórfico.

Para poder demostrar que esta teoría era cierta nos era preciso el conseguir, in vitro, la transformación moho-bacteria. Esto lo conseguimos y publicamos en nuestro trabajo: «Un hongo se convierte en bacteria» (4), en 1949. Los mohos dichos —aislados de lesiones tracomatosas en el medio que indicábamos— los transformamos en tipos bacterianos, posiblemente del género Bacillus y Micrococcus; correspondiendo totamente estas bacterias a las que obteníamos en las siembras de los productos de la expresión de las granulaciones tracomatosas dadas a conocer en la publicación citada (5).

El factor que causaba esta transformación decíamos (4) que era un pectato cálcico, extraído del albedo de la toronja

Ultimamente, y en colaboración con G. Sierra (9), hemos estudiado la naturaleza de tal factor de transformación Nuestras conclusiones han sido que el factor radicaba en pectinatos, cuya diferencia con los pectatos estriba en los grupos metilos y que era necesaria la glucosa para su actuación. Esta combinación prepara los mohos para que en cuanto son resembrados sobre agar o caldo de infusión de carne se produzca la transformación moho-bacteria.

Después de lo dicho surge la pregunta: ¿Qué papel desempeñan los radicales metilo en la transformación? ¿Actúan ellos por sí mismos o combinados en las pectinas?

Otra vez los estudios epidemiológicos sobre la endemia tracomatosa nos ayudarán. Estre los factores que pusimos de manifiesto como causantes de la enfermedad figuraban: a) las manipulaciones del esparto enriado (2); b) las labores del cultivo intensivo en la horticultura (1), y c) el oficio cañicero, con cañas más o menos enmohecidas (1).

Del esparto, vemos en la publicación citada (9) que podíamos extraer un pectinato capaz de producir la transformación. En las cañas, es sabido que las paredes, y en especial la cementación intercelular de los tejidos vegetales, es a base de hemicelulosas y pectinas —existe, pues, el mismo factor de transformación—, sólo falta que estén atacadas por el moho en cuestión, lo que ya indicábamos en nuestro estudio de este factor epidémico (1). En el oficio de horticultor el labrador está en continuo contacto con la tierra, que tiene un gran contenido de humus, procedente en gran parte de la desintegación de sustancias vegetales y en donde quedan durante mucho tiempo gran cantidad de pectinas y sustancias parecidas sin sufrir hidrólisis más profundas. Lógico es, pues, considerar que existan los factores de transformación.

Así, pues, los tres factores epidémicos citados quedan explicados, en su actuación como agentes del tracoma, con todos los datos hasta aquí aportados como posibles reservorios del moho: Asp. amstelodami y de los factores capaces de transformarlo en bacteria.

Entre los factores epidémicos se nos escapa uno, muy característico y bien definido, que es el o f i c i o p e s c a d o r. De momento no encontrábamos en él relación aguna con lo hasta aquí expuesto. No cabe duda que sobre el pescado y sus residuos puede crecer en el clima adecuado el A s p e r g i l l u s; mas no sabemos que existan pectinas en el pescado, ni productos parecidos.

Estudiando la naturaleza del pescado fresco o en descomposición a través de horas y días después de muerto, podemos encontrar algo relacionado con la metilación.

Los animales, como un total, pueden dividirse en tres grupos, según la manera de excretar el nitrógeno: en amoníaco, urea o ácido úrico. Según esto, pueden dividirse en: anmonotélicos, ureotélicos y uricotélicos. El procedimiento empleado, en general, depende de la cantidad de agua que tiene a su disposición. Los que pueden disponer de mucha agua pueden llevar a cabo la excreción amoniacal; los que poca, lo hacen en forma de urea, y los que menos, en úrico. De aquí que los que viven en el agua puedan hacerlo según el primer procedimiento.

Los peces, en general, podemos dividirlos en dos grandes clases: los teleósteos o peces con huesos, y los elasmobranquios o peces cartilaginosos.

En los teleósteos de agua dulce el amoníaco escapa fácilmente de sus tejidos a través de la orina. En cambio, en los teleósteos marinos, esto presenta más dificultades. La membrana de las agallas y las mucosas de la boca son apreciablemente permeables al agua, como lo son en los de agua dulce. Pero el agua del mar contiene 3 por 100 de sales, mientras que la dulce sólo el 1 por 100, que es también la concentración en la sangre. Por consiguiente, la corriente no es de fuera a dentro del cuerpo del pez, sino que al revés, y, por tanto, los peces marinos teleósteos, a pesar de estar en el agua, podríamos decir que tienen escaso aporte de ella.

Homer Smith estudió la excreción del nitrógeno en los peces marinos teleósteos, y vió que casi las 3/4 partes del amoníaco es excretado como tal a través de las agallas y el 1/3 que queda lo es bajo la forma de óxido de trimetila. mina. En los elasmobranquios marinos, el proceso es distinto. Estos retienen en su cuerpo grandes cantidades de urea, debido a que las agallas son impermeables a ella. Así, la urea es retenida en un 2 a 1,5 por 100 en la sangre. Así, son, pues ureotélicos; pero, lo mismo que los teleósteos, convierten una parte de su amoníaco en óxido de trimetilamina.

En ciertos peces marinos la excreción del amoníaco es, pues, en forma de óxido de trimetilamina y en cantidad hasta del 50 por 100 del total. La formación de este producto puede llevarse a cabo mediante un proceso de metilación biológica del amoníaco y luego es oxidado en los tejidos.

La trimetilamina tiene un olor característico a pescado podrido, o sea que ella es la que da al pescado este olor s u i g é n e r i s. La sangre de los elasmobranquios la contiene en unos 100 a 120 mm. por litro, ante unos 330-

340 mm. de urea, y en la orina sólo hay 1/10 parte más, o sea que es una sustancia retenida en la sangre y los tejidos. En los teleósteos, en cambio, es 1/5 parte de la de los elasmobranquios, o sea que en este caso es un producto de excreción. La trimetilamina seguramente desempeña un gran papel en la economía de los peces marinos. De todo lo cual podemos deducir que en éstos hay un mecanismo de metilación.

Podemos, pues, en un principio explicarnos por qué los pescadores sufren de un modo especial tracoma en ciertos climas. El pescado puede ser invadido por los Aspergillus dichos y éstos pueden sufrir el proceso de metilación. Con esto aceptamos, además, el criterio de que en el caso de los pectinatos son los radicales metilos los que actúan como factor, o sea que el proceso de la transformación se basaría en un medio de cultivo capaz de dar una metilación orgánica —y posiblemente de la glucosa— alterando el metabolismo del moho.

Así, pues, según esto, el proceso de metilación sería común —por uno u otro procedimiento— a todos los factores epidémicos que nosotros hemos estudiado en el tracoma y causaría la transformación de Aspergilus amstelodami y penicilloides, en bacterias y formas ricketsoides dentro de un ciclo vital.

Para la plena demostración de que el agente etiológico del tracoma es el Aspergillus amstelodami falta la enfermedad experimental. Las dificultades que se presentan para conseguirla son múltiples y en parte las hemos expuesto recientemente en 1950 en una publicación (7).

La metilación, en general, es un proceso químico que se da en los organismos y por diversos procedimientos. Una de las fuentes principales de metilación parece ser la colina, que es uno de los componentes clásicos del complejo vitamínico B, y es posible que sea una sustancia esencial, precisamente por ser fuente de los grupos — CH_3.

En consecuencia, hicimos la prueba de sustituir en nuestros medios de cultivo los pectinatos por la colina y así preparamos el siguiente medio:

Sol de sales de Czapek	100 c. c.
Colina	1 2 g.
Glucosa	2 g.
Agar	c. s.

Sembramos los Aspergillus en este medio y en otro en el que sustituíamos la sol. de sales de Czapek por caldo común y los cultivamos a 27°; los dejamos crecer y madurar durante tres meses. Al cabo de los cuales hicimos siembras de estos cultivos en agar común a 37°, obteniendo la transformación moho-bacteria en todos los casos.

* * *

Nos es grato expresar nuestro agradecimiento a la casa «Roche» y a su representante en España, por habernos proporcionado gratuítamente Colina y Glucosamina para estas experiencias.

RESUMEN

a) Establecemos que el factor de transformación moho-bacteria estriba en una metilación orgánica.

b) Que los mohos tipo Aspergillus amstelodami y Asp. penicilloides, así como el factor metilación, pueden encontrarse en los factores «epidémicos profesionales» del tracoma.

c) Con este estudio y los ya publicados sobre etiología y epidemiología del tracoma confirmamos que el agente etiológico de esta enfermedad es el citado Aspergillus, en una o en todas las fases de su ciclo pleomórfico.

SUMMARY

a) We state that the factor of the mold-bacterium transformation depends on an organic methylation.

b) That the mold Aspergillus amstelodami and Asp. penicilloides, as well as the methylation factors may be found in the «professional epidemic» factors of trachoma.

c) With this paper and those already published on etiology and epidemiology of trachoma, we confirm that the etiological agent of this illness is the above mentioned Aspergillus, in one or in all phases of its pleomorphic cycle.

BIBLIOGRAFIA

(1) **SOCIAS, A.** 1940. Estudio de los factores epidémicos en la endemia tracomatosa. III. Factores: Horticultura y oficio cañicero. **Rev. de Sanidad e Higiene Públ.** XIV, 3.

(2) ——— 1943. Estudio de los factores epidémicos en la endemia tracomatosa. Factor conjuntivitis, «Miseria» y «Laboreo del cáñamo y esparto», etc. **Rev. de Sanidad e Hig. Públ.** XVII, 1.

(3) ——— 1944. Formas seudocelulares del agente etiológico del tracoma. **Rev. de Sanidad e Hig. Públ.** XVII, F.

(4) ——— 1949. Un hongo (Eumiceto) se transforma en bacteria (Esquizomiceto). **Anal. Edaf.** VIII, 2.

(5) ——— 1950. Bacterias y mohos procedentes de cultivos de folículos tracomatosas. **Microb. Españ.** III, 2.

(6) ——— 1950. Hipótesis de una etiología micósica del tracoma. Motivos para su establecimiento. **Rev. de Sanidad e Hig. Públ.** XXIV, 6.

(7) ——— 1950. Sobre el tracoma experimental. **Archivos de la Sociedad Oftl. Hispanic Americana.** X, 12.

(8) ——— 1951. Formas micósicas en cortes histopatológicos de conjuntiva tracomatosa. **Microb. Españ.** III, 3-4.

(9) ——— y **SIERRA, G.** 1951. El factor de transformación moho-bacteria. **Microb. Españ.** IV, 1.

INSTITUTO "A. G. de ROCASOLANO".—SECCION DE FISICO-QUIMICA BIOLOGICA
C. S. I. C.

SOBRE LA DETERMINACION POLAROGRAFICA DEL CLORAMFENICOL

Gregorio Varela Mosquera.

El objeto del presente trabajo es estudiar el comportamiento polarográfico del cloramfenicol (cloromicetina), con propósito de llegar a su determinación cualitativa y cuantitativa.

Aplicamos la técnica polarográfica corriente y determinamos este compuesto en varias muestras procedentes de tres firmas comerciales de diferentes nacionalidades y que se encuentran en el mercado español.

Como se verá a continuación, es posible la determinación cualitativa y cuantitativa del cloramfenicol con una gran sencillez y sensibilidad.

TECNICA UTILIZADA

Las determinaciones se hicieron con un Polarógrafo ETCO, número 424, que está instalado en el Centro Técnico de Farmacobiología.

Este polarógrafo es de registro directo, mediante un galvanómetro robusto, provisto de sistema inscriptor.

La corriente de alimentación del polarógrafo fué la de la red, previamente estabilizada, y al potenciómetro se aplicó una corriente de 2,4 voltios, de manera que a cada división del papel registro corresponde 0,1 voltio. (En realidad la alimentación del pontenciómetro es con una batería de seis voltios, que se reducen a 2,4, mediante un mando de reducción del voltaje.)

La sensibilidad del aparato varió en las diferentes determinaciones, según indicaremos en cada una de ellas; pero la más corriente fué una amplificación de 5. En estas condiciones, a una posición del mando de sensibilidad del galvanómetro de 1.000, le corresponde una corriente de $1,\overline{6} \times 10^{-2}$ microamperios por milímetro de papel. Esta sensibilidad corresponde, como decimos, a la posición 1.000 en el mando sensibilizador, siendo las diferentes posiciones de este mando la mitad de la sensibilidad anterior; es decir, que a la posición 900 corresponde una corriente de $2 \times 1,\overline{6} \times 10^{-2}$ microamperios por milímetro de papel, y a la posición 800, una sensibilidad de $4 \times 1,\overline{6} \times 10^{-2}$ microamperios por

milímetro, hasta llegar a la posición 100, siguiendo la norma dicha de ser la menor la mitad de la anterior.

Empleamos vasijas cilíndricas abiertas, pues trabajando en las condiciones estudiadas no es necesario pasar nitrógeno por la solución.

El ritmo de goteo del cátodo de gotas, en nuestro capilar, fué de 24 gotas por minuto en agua destilada.

La temperatura de la habitación, 15 grados centigrados, con una oscilación durante la jornada de trabajo de ± 0,5 grados.

Solución fondo.—Como solución soporte hemos utilizado una de cloruro amónico y ácido clorhídrico decimomolar, con un pH de 3. En algunas determinaciones esta solución se diluyó al décimo.

A esta solución fondo se le añadían unos cristalitos de sulfito sódico y de timol.

La misión del sulfito era la de eliminar la onda propia del oxígeno. En una serie de experiencias hemos comprobado que este cuerpo no interfiere en la onda propia del cloramfenicol.

El timol tenía por objeto suprimir los máximos que aparecían en las ondas polarográficas; tampoco afecta ni a la posición ni a la altura de la onda del cloramfenicol.

El cloramfenicol lo disolvíamos en la propia solución fondo, de la que tomábamos las cantidades que figuran en los protocolos de las experiencias; pero, dada su escasa solubilidad en el agua, nunca hemos utilizado concentraciones mayores de 300 gamas de cloramfenicol por centímetro cúbico.

En estas condiciones hemos encontrado para el cloramfenicol un potencial de onda media de — 0,475 voltios.

DETERMINACION CUANTITATIVA

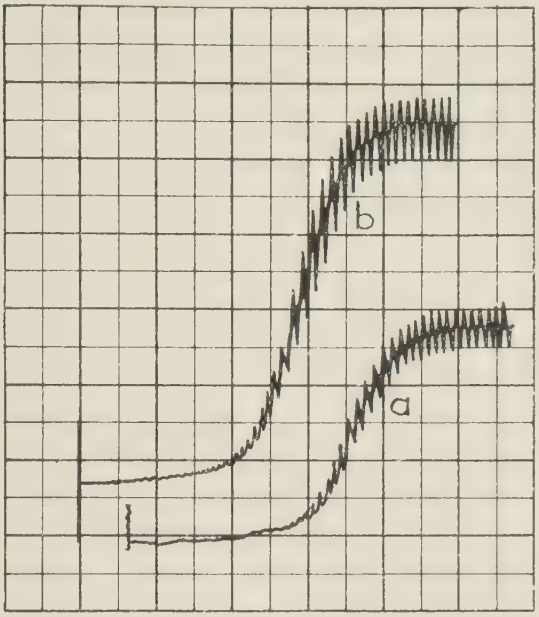
Como el potencial de onda media del cloramfenicol es, como decimos, de — 0,475 voltios, en nuestras experiencias registramos entre los potenciales — 0,2 y — 0,7 voltios.

Encontramos que existe una exacta proporcionalidad entre las concentraciones de cloramfenicol y la altura de su onda polarográfica, operando en las condiciones dichas.

La sensibilidad del método es de 0,75 gamas de cloramfenicol, operando a $6{,}4 \times 10^{-2}$ microamperios por milímetro y en solución fondo 0,01 molar.

En el polarograma adjunto se ve un ejemplo de esta proporcionalidad entre concentraciones y alturas de onda. Su protocolo es:

Curva a.—2 c. c. de solución fondo de pH 3, 0,01 molar, que tienen una concentración de 0,0194 miligramos por c. c.



Polarograma 1.

Curva b.—2 c. c. de solución fondo, en idénticas condiciones que la curva a, con una concentración de 0,0356 miligramos por c. c.

Este polarograma está registrado entre — 0,2 y — 0,7 voltios.

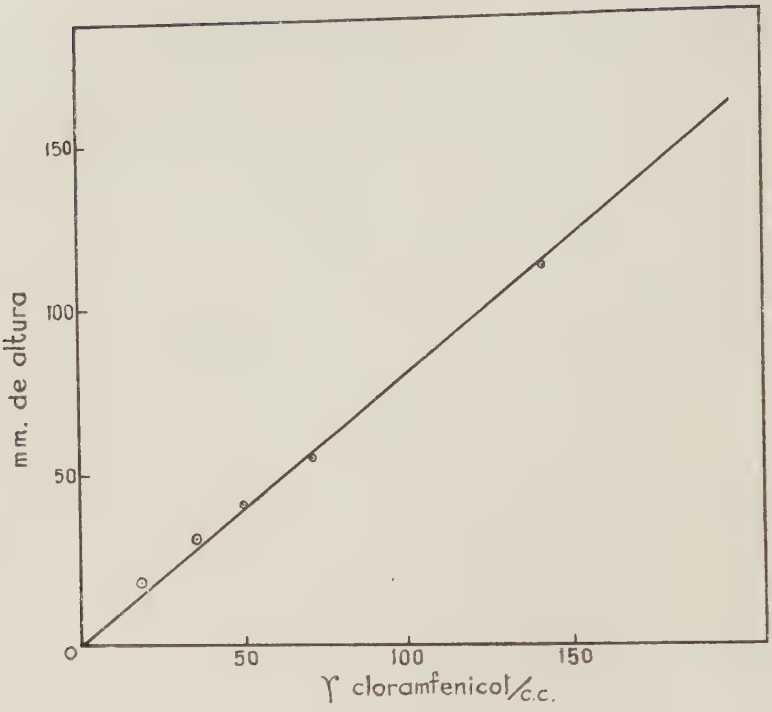
A cada milímetro de papel corresponden 6,4. 10^{-2} microamperios.

A cada solución se le añadieron unos cristalitos de timol y de sulfito sódico, con el propósito ya dicho.

Para estas dos concentraciones encontramos una altura de onda, medida de la forma usual en polarografía, de:

a.—0,0194 mg./c. c. ... ... 26 mm. de altura.
b.—0,0356 mg./c. c. ... ... 42 mm. de altura.

Como se ve, existe una proporcionalidad directa entre concentraciones y alturas.



Gráfica 1.

La gráfica demuestra esta proporcionalidad entre concentraciones comprendidas entre 19,4 y 214 gamas de cloramfenicol por c. c., concentraciones que cubren el campo de nuestro trabajo, ya que corresponden en su solución más diluída a una molaridad de $8{,}3 \cdot 10^{-5}$ y por el otro extremo viene limitado por la solubilidad del cloramfenicol. Creemos que la gráfica 1 muestra claramente cómo al existir relación linear entre las concentraciones estudiadas y sus alturas de ondas el método polarográfico permite la determinación cuantitativa del cloramfenicol.

Los puntos que figuran en la gráfica corresponden a los siguientes valores de concentraciones y alturas.

| | | |

La solución fondo era 0,1 molar, y a cada milímetro de papel corresponden $6,\overline{6} \times 10^{-2}$ microamperios.

Se han ensayado muestras de tres productos comerciales que se encuentran en el mercado español, y en todos ellos encontramos esta misma proporcionalidad entre concentraciones y altura de onda. Dos de éstos preparados se presentan en la forma farmacéutica de cápsulas gelatinosas, y la tercera en sellos.

DETERMINACION CUANTITATIVA DEL CLORAMFENICOL EN UNA FORMA FARMACEUTICA

Como ejemplo de la práctica de la operación, vamos a analizar el cloramfenicol de unos sellos del mercado.

Del contenido del sello se pesa una cantidad de producto, de manera que, por las razones antes dichas, venga a tener una concentración de unas 100 gamas por c. c. Se registra a la sensibilidad conveniente para que dé una onda polarográfica de altura mesurable y después se le añade una cantidad de cloramfenicol de una solución patrón. Reduciendo a igualdad de volumen, tendremos que del incremento de la altura que corresponde al cloramfenicol añadido por una simple proporción nos dará el cloramfenicol presente en la solución primera.

Ejemplo:

Se disuelven en 10 c. c. de la solución fondo 3 miligramos de producto, con lo que tendremos una concentración de 0,30 miligramos por c. c. De esta solución tomamos un c. c. y le añadimos 2 c. c. de la solución fondo.

Polarografiamos entre — 0,2 y — 0,7 voltios, después de añadir unos cristalitos de timol y sulfito sódico. En nuestro caso encontramos adecuada una sensibilidad de $26,4 \times 10^{-2}$ microamperios/mm.

A otro c. c. de la solución problema le añadimos 2 c. c. de una solución standard de cloramfenicol, que tiene 200 gamas por c. c. Polarografiamos en las mismas condiciones y, midiendo las alturas de las ondas, tenemos:

Si x gamas dan una altura de 14 mm.
$x + 400$ gamas dan una altura de 41 mm.

de donde

Si a 400 gamas le corresponde una altura de 41-14 = 27 mm.
x gamas corresponderán a una altura de 14 mm.
$x = 207,4$.

Quiere esto decir que en los tres c. c., que contienen 300 gamas de muestra, hay 207,4 gamas de cloramfenicol, lo que supone un 69 por 100 de riqueza,

correspondiendo el resto al excipiente que suelen llevar estas formas farmacéuticas.

RESUMEN

Se estudia el comportamiento polarográfico del cloramfenicol (cloromicetina).

Se utiliza como solución fondo una de ácido clorhídrico y cloruro amónico de pH 3.

Encontramos un potencial de onda media de — 0,475 voltios.

Existe una relación lineal entre alturas de onda y concentraciones.

La sensibilidad del método es de 0,75 gamas de cloramfenicol, calibrado el polarógrafo para que a un milímetro de papel le correspondan $6{,}4 \times 10^{-3}$ microamperios.

Como ejemplo se hace una determinación cuantitativa en una forma farmacéutica.

SUMMARY

The polarographic behaviour of chloramphenicol (chloromycetine) was studied.

Hydrochloric acid and ammonium chloride of pH 3 were used as base solution.

We found a medium-wave potential of —0.475 volts.

There exists a linear relationship between the height of wave and concentrations.

The sensitivity of the method is of 0.75 gammas of chloramphenicol, the polarograph being calibrated so that 6.4×10^{-2} micro-amps. correspond to one mm of paper.

A quantitative determination in pharmaceutical form is given as example.

BIBLIOGRAFIA

HESS, G. B. 1950. **Anal. Chem.** 22: 649-651.

HEYROVSKY. 1941. Polarographie. Springer. Viena.

PORTILLO. 1945. Introduction a la teoría y práctica de la Polarografía. Madrid.

INFORMACION

PROFESOR VICTORIANO COLOMO Y AMARILLAS (†)

El día 14 del pasado mes de enero ha fallecido en Madrid el destacado miembro de nuestra Sociedad don Victoriano Colomo y Amarillas.

Natural de Mérida (Badajoz), cursó los estudios de Veterinaria en Madrid y Santiago con premios en las asignaturas de la carrera. Catedrático por oposición, primero de la Escuela Superior de Veterinaria de Córdoba, y después en la de Madrid, desempeñó en esta última la cátedra de Bacteriología e Inmunología, desde 1912 hasta su jubilación, en 1939. Posteriormente ocupó la Dirección de la Escuela madrileña, y al ser elevada ésta a Facultad fué nombrado Decano de la misma. Fué también Jefe de Sección del Instituto Nacional de Higiene Alfonso XIII (hoy Escuela Nacional de Sanidad) y Vocal del Consejo Superior Pecuario. Era asimismo Vocal del Consejo Superior de Investigaciones Científicas y Jefe de Servicios del Instituto de Investigaciones Veterinarias.

Además de sus dos obras «Disección Veterinaria» y «Microscopia», publicó numerosos trabajos de investigación en el **Boletín del Instituto Nacional de Higiene, Anales del Instituto de Investigaciones Veterinarias** y **Anales de la Escuela de Veterinaria.** En éstos dió a conocer su trabajo «Nuevos conceptos en la doctrina de la Inmunidad».

Descanse en paz el Prof. Colomo y Amarillas.

RENOVACION DE DIRECTIVA

En la sesión celebrada por la Sociedad de Microbiólogos Españoles el día 23 del pasado mes de febrero se efectuó el escrutinio de los votos recibidos para la elección de los cargos vacantes reglamentariamente en la Junta Directiva.

En consecuencia, la Junta ha quedado constituída de la manera siguiente:

Presidente:	Don Antonio Ruiz Falcó.
Vicepresidente:	Don Gerardo Clavero del Campo.
Secretario:	Don Lorenzo Vilas López.
Tesorero:	Don Miguel Benlloch Martínez.
Bibliotecario:	Don Ricardo Salaya León.
Vocal:	Don Jenaro Alas Cores.
Vocal:	Don Gabriel Colomo de la Villa.
Vocal:	Don Eduardo Gallardo Martínez.
Vocal:	Don José García Bengoa.
Vocal:	Don Rafael Ibáñez González.
Vocal:	Don Emilio Luengo Arroyo.
Vocal:	Don Florencio Moreno de Vega.
Vocal:	Don Arnaldo Socías Amorós.

EXTRACTOS DE «MICROBIOLOGIA»

En los **Biological Abstracts** norteamericanos aparecerán en breve extractos de los trabajos de investigación publicados en **Microbiología Española.** Los extractos, iniciados con los correspondientes al año 1950, son enviados directamente desde la Redacción de nuestra Revista.

ACTAS DE LA SOCIEDAD

MADRID

Acta de la Sesión celebrada el día 14 de diciembre de 1950.

A las diez y nueve treinta horas y en el aula de la Sede Central del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Serrano, 117, se abre la Sesión, bajo la presidencia de don Gerardo Clavero del Campo.

Primeramente, el Sr. Clavero del Campo hace un sentido elogio de la vida y obra de don Juan Marcilla, primer Presidente que fué de la Sociedad y a cuya memoria se dedica esta sesión, dando cuenta seguidamente el Secretario de las adhesiones recibidas como homenaje a la figura desaparecida. Don Enrique Feduchy lee la biografía de don Juan Marcilla, compuesta por sus discípulos, y don Luis Hidalgo da lectura al trabajo «Condiciones óptimas de proliferación de la Torulopsis utilis (variedad magna de Thaysen) sobre prehidrolizados de carozos de maíz», de la que son autores los señores Marcilla (†), Feduchy, Hidalgo y Garrido.

Se pasa a la sesión científica ordinaria, dando lectura el Secretario al Acta de la Sesión anterior, que es aprobada. El Sr. Vilas da cuenta de un trabajo enviado por el Sr. Xalabarder sobre «Opacímetro de registro fotográfico continuo». Por último, don Miguel Rubio presenta una comunicación bajo el título «Estudio sobre inclusiones producidas por virus en las plantas», a la que solicita algunas aclaraciones el Sr. Gallardo, que son contestadas satisfactoriamente por el comunicante.

Y no habiendo más asuntos que tratar, se levanta la sesión.

BIBLIOGRAFIA

VOGEL (Hans).—1951. Die Antibiotica. Verlag Hans Carl. Nürnberg. XII + 528 pags.

La obra de Vogel era necesaria, pues el impulso que en pocos años ha adquirido el estudio de los antibióticos ha sido extraordinario. Las distintas ramas de la química orgánica, análisis y síntesis, la vitaminología, la nutrición, la físico-química, las sustancias marcadas con isótopos, todo ha sido puesto a contribución y quizá pocas cosas ha habido en investigación que tuvieran un tan amplio y lucido cortejo de ciencias auxiliares. No sólo la especulación pura, sino la aplicación práctica, la industrialización a gran escala y a corto plazo ha movilizado la técnica industrial, desde la obtención de aleaciones no perjudiciales a los problemas de aireación, la cromatografía, etc.

Hasta ahora, quien quería tener conocimientos extensos, aunque no fueran profundos, de la materia tenía que consultar centenares de trabajos individuales, pues no existía una obra de conjunto en la que lo mismo el botánico que el químico, el farmacéutico y el médico pudieran hallar lo que deseaban. Y no es sólo el especializado, sino también el público culto, que cansado de divagaciones quiere algo que le sitúe en el justo medio.

Después de una corta parte de sistemática de los diversos organismos productores de antibióticos pasa a la química de estas sustancias con abundantes fórmulas estructurales y en los casos actualmente conocidos estudia los derivados químicos obtenidos.

Las aplicaciones prácticas de los antibióticos van acompañadas de excelentes cuadros y esquemas muy claros. En la parte dedicada a control hay lo verdaderamente justo y comprobable, habiendo el autor, con su experiencia, librado al lector de técnicas poco útiles.

Finalmente, como ya nos tiene acostumbrados el Dr. Vogel, hay un resumen «comentado» de las diversas patentes industriales relacionadas con antibióticos. Es esta una parte utilísima no sólo para el industrial, sino también para el hombre de laboratorio puro, pues las orientaciones industriales suelen encaminar muy bien por derroteros que el científico no suele usar, pero que la práctica demuestra su utilidad.

El papel, impresión y encuadernación, perfectos. La confección de fórmulas estructurales y tablas, una muestra más de que la editorial Hans Carl sigue las huellas de la mejor tradición germana.—**A. Valls Conforto.**

INDICE DE ARTICULOS DE REVISTAS

Bajo este epígrafe se efectúa la publicación sistemática, por orden cronológico, de los títulos de los trabajos que han aparecido en los últimos años en las principales revistas microbiológicas. En este número se recogen los títulos correspondientes a los tomos 69-71 (1943-1945) de **Annales de L'Institut Pasteur** (Biblioteca del Instituto de Edafología.—I. E.).

Mediante convenio con el Servicio de Microfilm del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, la Sociedad puede facilitar a los señores socios reproducciones de los artículos que deseen, para lo cual bastará escribir al Secretario de la Sociedad, Serrano, 113, Madrid, precisando el número en negrita que encabeza al artículo cuya copia se solicita.

Los precios y condiciones se detallan al final de esta Sección.

1.893

DEINSE (F. van).—1943. Epanchements pleuraux chez le cobaye a la suite de l'inoculation médiastinale de bacilles tuberculeux. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 1-12. I. E.

1.894

NICOLLE (Pierre).—1943. Sur une cause importante d'erreur dans le titrage d'un bactériophage cas des suspensions bacteriennes non homogènes. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 13-16. I. E.

1.895

GIUNTINI (J.) et LEVADITI (Jean C.).—1943. Mesure interférométrique de la profondeur des chambres construites pour la numération des particules ultramicroscopiques. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 17-21. I. E.

1.896

BONET-MAURY (P.).—1943. Evaluation, par irradiation alpha, de la taille du virus de la fièvre aphteuse. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 22-26. I. E.

1.897

HEITZMANN (P.).—1943. Sur la fermentation B-hidroxybutyrique produite par le bacille M de Lemoigne. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 27-38. I. E.

1.898

NITTI (F.) et JOYEUX (Y.).—1943. Macrodosage et microdosage des aminophénylsulfamides au moyen de l'électrophotomètre de Meunier. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 39-42. I. E.

1.899

GASTINEL (P.), NEVOT (A) et HEBRARD (P.).—1943. Influence de l'huile d'olive neutre sur le développement des cultures de bacilles tuberculeux aviaires ou bovins sur milieu de Lœwenstein. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 43-45. I. E.

1.900

BABLET (J.) et DEINSE (F. van).—1943. Trois cas d'infection oculaire spécifique ou cours de la tuberculose expérimentale par bacilles atténués. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 45-47. I. E.

1.901
LEGROUX (R.) et JERAMEC (C.).—1943. Diagnostic bactériologique du botulisme. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 47-49. I. E.

1.902
LEGROUX (R.) et BLANC (G.).—1943. Noveaux éléments de rapprochement des bacilles de la morve de Whitmore et pyocyanique. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 49-52. I. E.

1.903
GIRARD (G.)—1943. Sensibilité des bacilles pesteux et pseudotuberculeux d'une part, des germes du groupe coli-dysentérique d'autre part, aux bactériophages homologues. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 52-54. I. E.

1.904
BOQUET (A.).—1943. «Substances antihistaminiques» et réactions tuberculiniques. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 55-58. I. E.

1.905
LAPORTE (R.).—1943. Sur la rapidité de dispersion dans l'organisme des bacilles tuberculeux introduits dans la peau. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 59-61. I. E.

1.906
SEGRETAIN (G.).—1943. Culture d'un virus son inoculation sur fragments de tige de tabac cultivés «in vitro». **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 61-63. I. E.

1.907
BLANC (Georges), DELAGE (Bernard) et MARTIN (L.-A.).—1943. Etude comparative de caractéres biochimiques et sérologiques du bacille de Whitmore et du bacille pyocyanique. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 65-74. I. E.

1.908
DESNUELLE (Pierre), CHANG CHI TAN et FROMAGEOT (Claude) -1943. Sur la protéine du virus de la maladie a polyèdres (grasserie) du ver a soie. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 75-86. I. E.

1.909
HEITZMANN (P.).—1943. Sur la fermentation B-hidroxybutyrique produite par le bacille M. de Lemoigne. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 87-94. I. E.

1.910
SETGNEURIN (R.) et RENOUX (G.).—1943. Le mécanisme physico-chimique de l'action oligodynamique de mercure. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 95-111. I. E.

1.911
MAGROU (J.).—1943. A propos de la tubérisation symbiotique de la pomme de terre. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 112-114. I. E.

1.912
MAGROU (J.), CUZIN (J.). et MARIAT (F.).—1943. Pression osmotique de la solution du sol et tubérisation asymbiotique de la pomme de terre. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 114-116. I. E.

1.913
NICOLLE (Pierre).—1943. Apreciation de la taille des corpuscules bacteriophages par leur sensibilité au frottement. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 116-121. I. E.

1.914
ROUYER (M.).—1943. Relation entre la production des bactériophages et la multiplication du B. megatherium lysogène cultivé en goute pendante. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 121-123. I. E.

1.915
GALLUT (Jean).—1943. Le complexe glucido-lipidique cholérique dans le vibrion et dans sa toxine. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 123-126. I. E

1.916
FAGUET (M.) et NITTI (F.).—1943. Enregistrement continu des courbes de croissance microbienne a l'aide du microbiophotomètre. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 126-128. I E.

1.917
BERNARD (Noël).—1943. A. Yersin (1863-1943). **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 129-134 I. E.

1.918
REMLINGER (P.) et BAILLY (J.).—1943. Action de la protéolyse sur la virulence de la substance nerveuse rabique. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 135-138. I. E.

1.919
LEVADITI (C.) et PERAULT (R.).—1943. Action du rayonnement α du Radon sur la virulence et le potentiel antigénique du virus vaccinal. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69:139-145. I. E.

1.920
GUILLAUMIE (Maylis).—1943. Préparation et propriétes des sérums anti-œdematiens. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 146-157. I. E.

1.921
LWOFF (M.) et CHORINE (V.).—1943. Influence de l'acide ascorbique sur la culture de Spirochœta gallinarum. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 158-161. I. E.

1.922
CHORINE (V.), GRABAR (P.), TIXIER (R.) et GROUGUE (O.).—1943. Ultrafiltration de Spirochœta hispanica. Détermination des diamètres des formes visibles et des formes infravisibles. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 162-170. I. E.

1.923
SEIGNEURIN (R.) et RENOUX (G.).—1943. Le meccanisme physico-chimique de l'action olygodynamique du mercure. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 171-178. I. E.

1.924
MONOD (Jacques).—1943. Influence de la concentration des substrats sur la rapidité d'adaptation chez le B. Coli. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 179-181. I. E.

1.925
CUZIN (J.).—1943. Stadardisation de l'opération de pesée. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 182-185. I. E.

1.926
LEMOIGNE (M.), SANCHEZ (G.) et GIRARD (H.).—1943. Sur la caractérisation de la fermentation β-hydroxybutyrique. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 187-189. I. E.

1.927
BONET-MAURY (P.), PERAULT (R.) et ERICHSEN (M. C.).—1943. Mise en évidence, par la respirométrie, de l'action bactériostatique des radiations ionisantes. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 189-192. I. E.

1.928
MACHEBŒUF (M.).—1943. Robert Sazerac (1875-1943). **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 193-194. I. E.

1.929
GRABAR (Pierre) et OUDIN (Jacques).—1943. Etude quantitative du système précipitant ovalbumine-anticorps homologue du lapin. I. Sur les composés solubles de la zone de'inhibition et leur précipitation par l'alcool. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 195-204. I. E.

1.930
LATARJET (Raymond).—1943. Actions primaires comparées des rayons X et ultraviolets sur le bacille paradysentérique Y6R. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 205-214. I. E.

1.931
PRUDHOMME (R.-O.)—1943. Acide ascorbique et lèpre murine. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 215-218. I. E.

1.932
GUELIN (A.)—1943. Recherches sur les bactériophages de l'eau de la Marine. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 219-228. I. E.

1.933
BERAUD (P.).—1943. Actions des agents cancérigènes chimiques sur les levures. Action de l'arsenic. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 230-237. I. E.

1.934
LEPINE (P.), LEVADITI (Jean C.), GRABAR (P.) et GUINTINI (J.).—1943. Ultrafiltration et Ultracentrifugation comparées du virus de la maladie d'Aujeszky (suite et fin). **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 238-241. I. E.

1.935
LEVADITI (C.) et GRABAR (P.).—1943. Ultrafiltration des «Corpuscules Normaux». **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 241-244. I. E.

1.936
LEVADITI (C.), LEPINE (P.) et VERGE (J.)—1943. Les ultravirus des maladies animales. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 245-246. I. E.

1.937
MAGROU (J.), DOUCHEZ (Y.) et SEGRETAIN (G.).—1943. Symbiose de la pomme de terre avec les endophytes de diverses plantes. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 246-247. I. E.

1.938
DESNUELLE (Pierre) et CHANG CHI TAN.—1943. Sur la protéine du virus de la grasserie du ver a soie. II. Répartition du soufre et teneur en alanine. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 248-250. I. E.

1.939
GALLUT (Jean) et GRABAR (Pierre).—1943. Recherches immunochimiques sur le vibrion cholérique. I. Etude quantitative de la réaction de précipitation de l'antigène glucido-lipidique par l'immunsérum de lapin. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 250-253. I. E.

1.940
TABONE (J.), NITTI (F.), SENECAL (M.) et MOUSSET (H.).—1943. Etude sur le pouvoir antisulfamide. VII. Comportement des protéines et de leurs produits d'hydrolyse enzymatique vis-a-vis sulfamide. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 253-256. I. E.

1.941
LEPINE (F.) et GIUNTINI (J.).—1943. A propos du virus de la fièvre aphteuse. Détermination sans observation directe du diamètre particulaire et de la constante sédimentation. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 257-261. I. E.

1.942
LAPORTE (R.).—1943. Un mode particulier d'autolyse microbienne: la désintegration progressive des bacilles du genre mycobaterium. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 262-267. I. E.

1.943
STAUB (Anne-Marie) et GRABAR (P.).—1943. Etude quantitative de la précipitation de sérums anticharbonneux et normaux par différentes solutions de gélose. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 268-274. I. E.

1.944
BERAUD (P.).—1943. Action des agents cancérigènes chimiques sur les levures. Action de l'arsenic. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 275-286. I. E.

1.945
BOUGET (Joseph).—1943. Rendements de la pomme de terre et associations végétales. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 287- 293. I. E.

1.946
BERTRAND (Gabriel).—1943. Sur le magnésium contenu dans l'eau de pluie récoltée a Grignon. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 294-302. I E.

1.947
NITTI (F.), TABONE (J.), MOUSSET (H.) et SENECAL (M.).—1943. Etudes sur le pouvoir antisulfamide. VIII. Pouvoir antisulfamide de différents organes (cobayes). Conclusions tirées de ces données. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 303-304. I E.

1.948

BELIN (Claude).—1943. Digestion papaïnique des viandes cuites. Application a la préparation d'un nouveau milieu de culture. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 305-307. I. E.

1.949

GALLUT (Jean) et GRABAR (Pierre).—1943. Recherches immunochimiques sur le vibrion cholérique. II. Sur les constituans de la toxine cholérique. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 307-309. I. E.

1.950

BOVET (F.) et BOVET (D.).—1943. Application de la méthode de Warburg a l'étude de l'action estérasique du venin de cobra. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 309-312. I. E

1.951

PIROT (R.), BOURGAIN (M.) et DUFAU-CASANABE (J.). -1943. Indentification de l'acétyl-méthyl-carbinol dans les milieux de culture par l'osazone correspondante et sensibilization de la méthode de Lemoigne. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 313-315. I. E.

1.952

PIROT (R.), BOURGAIN (M.) et DUFAU-CASANABE (J.). -1943. La production d'acétyl-méthyl-carbinol dans les milieux de culture. Importance des facteurs d'oxydo-réduction. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 315-319. I. E.

1.953

GASTINEL et FASQUELLE (R.).—1943. Sur l'évolution chez le lapin des lésions vaccinales allergiques pendant l'incubation de la primo-insertion virulente. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 319-320. I. E.

1.954

MACHEBŒUF (M.), DELSAL (J. L.), LEPINE (P.) et GIUNTINI (J.).—1943. Recherches sur l'état des esters du cholestérol et des phosphatides dans le sérum sanguin. Etude sur l'homogénéité des cénapses phosphatidosterido-proteidiques par ultracentrifugation et par électrophorèse. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 321-333. I. E.

1.955

FAURE (Marguerite).—1943. Méthode semi-industrielle de concentration et de purification de la toxine diphtérique. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 334-348. I. E.

1.956

BERAUD (P.).—1943. Action des agents cancérigènes chimiques sur les levures. Action de l'arsenic. II. Caractères spéciaux des levures accoutumées a l'arsénite de sodium. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 349-356. I. E.

1.957

FUNKE (Albert), BOVET (Daniel) et MONTEZIN (Georges).—1943. Sur quelques dérivés de l'éthylènediamine a action trypanocide. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 358-371. I. E.

1.958
BEQUIGNON (R.) et VIALA (CH.).—1943. Les vaccinations antirabiques a l'Institut Pasteur en 1942. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 372-374. I. E.

1.959
GASTINEL et FASQUELLE (R.).—1943. Du moment ou s'établit chez le lapin. L'immunité du névraxe a l'égard du neuro-virus vaccinal. (Suite et fin). **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 375-376. I. E.

1.960
MACHEBŒUF (Michel), VISCONTINI (Max) et RAYNAUD (Marcel).—1943. Recherches sur la stabilité des liaisons entre agglutinines et bactéries. Essais intructueux de dissociation des complexes antigènes-anticorps par des solutions d'aminoacides. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 376-378. I. E.

1.961
PREVOT (A. -R.) et RAYNAUD (M.).—1943. Recherches sur les anaérobies de l'huitre. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 378-380. I. E.

1.962
DERVICHIAN (D.) et MAGNANT (C.).—1943. Action ménagée de certains agents chimiques sur le sérum. **Annales de l'Institut Pasteur.** 69: 380-381. I. E.

1.963
GUELIN (A.).—1943. Lyse bactérienne provoquée par une souche de B. Coli. **Annales de L'Institut Pasteur.** 69: 382-384. I. E.

1.964
1944. Emile Marchoux (1862-1943). **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 1-6. I. E.

1.965
OUDIN (J.) et GRABAR (P.).—1944. Etude quantitative du système précipitant ovalbumine-anticorps homologue de lapin. II. Solubilité des précipités spécifiques dans une solution saline concentrée. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 5-15. I. E.

1.966
STAUB (Anne-Marie) et GRABAR (Pierre).—1944. Recherches immunochimiques sur la bactéridie charbonneuse. I. Le liquide d'œdème de cobaye et les polyosides. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 16-32. I. E.

1.967
TROISIER (J.), LE MELLETIER (J.) et SIFFERLEN (J.).—1944. La vaccination antituberculeuse par les voies respiratoires, aérosols et brouillards de BCG. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 33-36. I. E.

1.968
MOREL (Madeleine).—1944. Principe de dosage des cœnzymes I et II par le test Hemophilus Parainfluenzœ. Application a l'urine. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 37-49. I. E.

1.969
PREVOT (A.-R.) et RAYNAUD (M.).—1944. Sur une nouvelle espèce anaérobie isolée de l'huitre Inflabilis Setiensis n. sp. (suite et fin). **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 50-51. I. E.

1.970
LWOFF (André) et AUDUREAU (Alice).—1944. Recherches enzymatiques sur les mutations bactériennes. I. La carboxylase de l'acide oxaloacétique chez la forme normale et le mutant «succinate» de Moraxella Lwoffi. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 51-54. I. E.

1.971
ROUYER (M.).—1944. Un cas d'antagonisme microbien dans le groupe du megatherium. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 54-57. I. E.

1.972
MONOD (Jacques).—1944. Sur la non-additivité d'action de certains enzymes bactériens. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 57-59. I. E.

1.973
MONOD (Jacques).—1944. Remarques sur le problème de la spécifité des enzymes bactériens. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 60-61. I. E.

1.974
GALLUT (J.) et BRUMPT (L.-C.).—1944. Application experimentale de l'hémoagglutination rapide du vibrion cholérique. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 62-64. I. E.

1.975
LEMOIGNE (Maurice), DELAPORTE (Berthe) et CROSON (Madeleine).—1944. Contribution a l'étude botanique et biochimique des bactéries du genre Bacillus. Valeur du test de lácétylméthylcarbinol pour la caractérisation des espèces. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 65-79. I. E.

1.976
NITTI (F.), FOSSAERT (J.) et FAGUET (M.).—1944. Recherches sur l'activité antistaphylococcique et le mode d'action de la pénicilline. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 80-85. I. E.

1.977
GAUILLAUMIE (Maylis).—1944. Activité biologique des toxines œdematiens vibrion septique, histolytique et perfringens obtenues dans des bouillons préparées depuis un certain temps. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 86-104. I. E.

1.978
STEFANOPOULO (G. J.).—1944. Aédeme et phénomènes paralytiques par déséquilibre alimentaire chez le singe Macacus Rhesus en captivité. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 105-113. I. E.

1.979
LAPORTE (R.).—1944. Sur deux modes de libération de la tuberculine a partir des corps bacillaires. Désintégration autolytique et extraction par des procédés physico-chimiques (suite). **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 114-118. I. E.

1.980
PREVOT (A.-R.)—1944. A propos de la dénomination du microbe des monocytoses. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 118-119. I. E.

1.981
CONGE (M.) et BOYER (F.).—1944. Chimiothérapie du sodoku expérimental du cobaye par le sulfamide et ses dérivés. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 119-124. I. E.

1.982
NITTI (F.) et FAGUET (M.).—1944. Sur le temps d'action de certaines substances antagonistes l'acide P-aminobenzoïque, P-amino — phénylsulfamide et acide pantothénique (acide salicylique). **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 124-128. I. E.

1.983
GRABAR (Pierre) et STAUB (Anne-Marie).—1944. Recherches immunochimiques sur la bactéridie charbonneuse. II. Les fractions protéidiques du liquide d'œdème charbonneux et des extraits de B. Anthracis. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 129-143. I. E.

1.984
LWOFF (André) et AUDUREAU (Alice).—1944. L'agglutination réversible des Moraxella par les cations bi- ou polyvalents. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 144-147. I. E.

1.985
GUILLAUMIE (Maylis).—1944. Remarques sur l'action léthale de l'hémolysine α du Bacillus perfringens. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 148-154. I. E.

1.986
NICOLLE (Pierre).—1944. Synergie lytique de deux bactériophages actifs sur le bacille paratyphique B [B. gp et B. pp]. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 155-172. I. E.

1.987
HEITZMANN (P.) et BRECHOT (P.)—1944. Sur l'autolyse du bacille M. de Lemoigne. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 173-180. I. E.

1.988
PREVOT (A.-R.), TAFFANEL (J.) et RAYNAUD (M).—1944. Etude d'un milieu sans viande pour la culture des anaérobies le bouillon de placenta (suite et fin). **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 181-172. I. E.

1.989
PREVOT (A.-R.) et RAYNAUD (M.).—1944. Etude d'une nouvelle espèce anaérobie chromogène Clostridium corallinum N. SP. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 182-184. I. E.

1.990
PREVOT (A.-R.) et RAYNAUD (M.).—1944. Premières recherches sur la coralline pigment de Clostridium corallinum. P. et R. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 185-186. I. E.

1.991
NEGRE (L.) et BRETEY (J.).—1944. Durée de la résistance antituberculeuse conférée au cobaye par le B. C. G. administré par scarifications cutanées **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 186-189. I. E.

1.992

PIROT (R.), BOURGAIN (M.) et DUFAU-CASANABE (J.).—1944. A propos de la production d'acéthyl-méthyl-carbinol par certaines souches microbiennes et de sa mise en évidence dans les milieux de culture. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 189-190. I. E.

1.993

GIROUD (Paul) et PANTHIER (René).—1944. Au sujet du comportement du cobaye a l'inoculation péritonéale de virus typhique historique. **Annales del Institut Pasteur.** 70: 191-192. I. E.

1.994

LEPINE (P.), LEVADITI (Jean-C.) et GIUNTINI (J.).—1944. Sur les constantes physiques du virus vaccinal déterminées par ultracentrifugation. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 193-206. I. E.

1.995

GUILLAUMIE (Maylis), KREGUER (A.) et FABRE (M.).—1944. Comparaison des toxines élaborées par deux souches de Bacillus Perfringes. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 207-223. I. E.

1.996

LEMOIGNE (Maurice), DELAPORTE (Berthe) et CROSON (Madeleine). 1944. Contribution a l'étude botanique et biochimique des bactéries du genre Bacillus. Valeur du test des lipides β-hydroxy — butyriques pour la caractérisation des espèces. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 224-233. I. E.

1.997

BERTRAND (Gabriel).—1944. Sur le magnesium contenu dans l'eau de pluie récoltée a Paris. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 234-247. I. E.

1.998

GIROUD (Paul) et PANTHIER (René).—1944. Comportement du rat a l'inoculation péritonéale de virus historique passé par lapin (souche pulmonaire lapin) (suite et fin). **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 248-249. I. E.

1.999

BONET-MAURY, PERAULT (R.) et ERICHSEN (M. L.).—1944. L'action bactériostatique des rayons X et ultra-violets. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 250-252. I. E.

2.000

ROUYER (M.).—1944. Rapport entre les dimensions de quelques bactériophages et leurs vitesses de passage a travers la gélose. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 253-256. I. E.

2.001

CHORINE (V.).—1944. Nouvelle réaction de floculation de la lèpre. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 257-276. I. E.

2.002

LATARJET (Raymond).—1944. Actions primaires comparées des rayons X et ultraviolets sur la levure Saccharomyces ellipsoideus **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 277- 285. I. E.

2.003
PIROT (R.), BOURGAIN (M.) et DUFAU-CASABANE (J.).—1945. Caractères toxiques et antigéniques des extraits trichloracétiques des souches d' aerobacter d'origine intestinale. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 286-290. I. E.

2.004
DERVICHIAN (D.).—1944. Sur la nature des composés antigêne-anticorps et sur leur solubilité. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 291-301. I. E.

2.005
BOQUET (Paul).—1944. Sur la toxicité du sérum de vipera aspis (suite et fin). **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 302-304. I. E.

2.006
DOUCHEZ (Y.).—1944. Production expérimentale de tumeurs des racines par inoculation d'un myxomycète (Spongospora subterranea). **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 304-305. I. E.

2.007
DOLADILHE (Maurice) présenté par GRABAR (Paul).—1944. Fractionnement du sérum de cheval par les sels de plomb et d'uranium. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 305-307. I. E.

2.008
LEVADITI (Jean C.).—1944. Immobilisation par la lumière ultraviolette des bactéries rendues fluorescentes par la thioflavine. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 308-310. I. E.

2.009
DUSI (Histake).—1944. Le pouvoir de synthèse d'euglena viridis. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 311-312. I. E.

2.010
ROCHAIS (A.). et SIMON (F.).—1944. Antagonisme du colibacille et des bactéries putrides dans le lait contaminé. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 313-315. I. E.

2.011
GIRARD (G.).—1944. Le comportement des émulsions de bacilles pesteux en eau salée physiologique. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 315-317. I. E

2.012
LAMY (L.).—1944. Action du para-aminophénylsulfamide (II62F) sur les cultures d'aminies. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 318-320. I. E.

2.013
LOISELEUR (J.), NITTI (F.) et FAURE (M.).—1944. Relations entre la dénaturation et le pouvoir précipitant du sérum antidiphérique. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 321-331. I. E.

2.014
GUILLAUME (Maylis), KREGUER (A.). et FABRE (M.).—1944. Activité antitoxique apparente, titres anti-ξ, anti-α et pouvoir antiinfectieux des sérums anti-Perfringens. **Annales de l'Institut Pasteur.** 70: 332-340. I. E.

2.015
CHORINE (V.).—1944. Nouvelle réaction de floculation de la lèpre (1). **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 341-356. I. E.

2.016
BRETEY (J.).—1944. Expériences d'infection par un seul bacille tuberculeux isolé au micromanipulateur. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 355-365. I. E.

2.017
TABONE (J.), NITTI (F.) et MOUSSET (H.).—1944. Etudes sur le pouvoir antisulfamide.—IX. Essais de fractionnement des peptones [multiplicité des facteurs antisulfamides]. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 366-371. I. E.

2.018
DELAYNAY (Albert).—1944. L'ion calcium dans la physiologie du leucocyte. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 372-375. I. E.

2.019
NATIVELLE (R.).—1944. Septicémies, hémocultures et formes évolutives des bacteries (suite et fin). **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 376-378. I. E.

2.020
NITTI (F.), TABONE (J.). et MOUSSET (H.).—1944. Comportement des acides aminés vis-a-vis du P-aminophénylsulfamide (leur role probable dans le mécanisme de l'action antisulfamide). **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 379-380

2.021
MONOD (Jacques).—1944. Inhibition de ládaptation enzymatique chez B. Coli en présence de 2-4 dinitrophénol. **Annales de L'Institut Pasteur.** 70: 381-384. I. E.

2.022
MOLLARET (P.).—1945. La méningite endothélio-leucocytaire multirécurrente bénigne syndrome nouveau ou maladie nouvelle? Documents humoraux et microbiologiques. **Annales de L'Institut Pasteur** 71: 1-17. I. E.

2.023
GUILLOT (Marcel).—1945. Etude optique de la forme géométrique de quelques bactéries. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 18-33. I. E.

2.024
BEQUIGNON (R.) et VIALAT (CH.)—1945. Las vaccinations antirabiques a l'Institur Pasteur en 1943. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 34-36. I. E.

2.025
MONOD (Jacques).—1945. Sur la nature du phénomère de diauxie. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 37-40. I. E.

2.026
PIROT (R.), BOURGAIN (M.) et DUFAU-CASANABE (J.).—1945. Le mécanisme de la fluorescence des cultures d'*escherichia* dans les milieux de culture en eau peptonée au rouge neutre. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 41-42. I. E.

2.027
MAGROU (J.), BOUGET (J.). et BOUGET (CH.).—1945. Sur un pied de pomme de terre dépourvu de tubercules. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 42-43. I. E.

2.028
BOIVIN (A.) et LEHOUT (Y.).—1945. Sur l'«équipement toxique» général des bactéries du groupe entérique. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 44-46. I. E.

2.029
BONET-MAURY (P.)—1945. Unité de forme et de dimension des gros ultra-virus. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 46-49. I. E

2.030
MAGROU (J.) et MARIAT (F.)—1945. Action de l'aneurine sur le développement des embryons d'orchidées. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 49-51. I. E.

2.031
LAPORTE (R.).—1945. Sur un antigène de nature granulaire du bacille tuberculeux. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 51-53. I. E.

2.032
PONS (R.).—1945. Au sujet de la note de MM. Macheboeuf, Viscontini et Raynaud sur la «Stabilité entre agglutinines et bactéries» (1). **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 53-55. I. E.

2.033
HAUDUROY (Paul) et SANSONNENS (René).—1945. Valeur de la technique de pesée des corps microbiens avec essorage préalable. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 55-59. I. E.

2.034
METALNIKOV (S.).—1945. Utilisation des méthodes bactériologiques dans la lutte contre les parasites de la Farine. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 60-61. I. E.

2.035
GUELIN (A.)—1945. Augmentation progressive du titre bacteriophagique en l'absence du multiplication microbienne appréciable, dans certains échantillons autoclavés d'eau de rivière. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 61 64. I. E.

2.036
BERNARD (P. Noël) et GALLUT (Jean).—1945. Recherches sur la toxine du vibrion cholérique. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 65-82. I. E.

2.037
GALLUT (J.) et GRABAR (P.).—1945. Recherches immunochimiques sur le vibrion cholérique.—III. Mise en évidence de deux constituants toxiques de nature différente dans la toxine cholérique. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 83-92. I. E.

2.038
BERTHELOT (A.), NEGRE (L.) et BRETLEY (J.)—1945. Inhibition par le succinate d'éthyle de l'action aggravante de l'huile d'olive sur la tuberculose du cobaye. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 93-101. I. E.

2.039
LEPINE (P.) et SUATTER (V.).—1945. Etudes sur la pneumopathie des cobayes. I. La maladie des cobayes. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 102-120. I. E.

2 040
GUILLOT (Marcel).—1945. Etude optique de la forme géometrique de quelques bactéries. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 121-141. I. E.

2.041
NITTI (F.), COSAR (C.) et BOYER (F.).—1945. Activité antimicrobienne des sulfamidodiazines. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 142-146. I. E.

2.042
SARCIRON (R.), VENDRELY (R.) et BRIAND (O.).—1945. Recherches sur les nucleoprotéides des micro-organismes. I. Contribution a l'étude du problème analytique. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 147-151. I. E.

2.043
PREVOT (A. R.) et TAFFANEL (J.).—1945. Recherches sur un nouveau coccus anaérobie Staphylococcus activus n. sp. (suite et fin). **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 152-154. I. E.

2.044
GRABAR (P.) et ROUYER (M.).—1945. La désintégration des microbes par les ultrasons. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 154-157. I. E.

2.045
BAOZET (Pierre).—1945. Différenciation, par la synergie lytique de deux phages présents dans un même filtrat et donnant sur gélose des plages d'aspect voisin. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 157-160. I. E.

2.046
NEGRE (L.) et BRETLEY (J.).—1945. Influence exercée sur la tuberculose du cobaye par le B. C. G. administrépar scarifications cutanées. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 161-167. I. E.

2.047
BOIVIN (A.) et DELAYNAY (A.).—1945. Les Agressines bactériennes et leur action favorisante spécifique sur l'infection. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 168-171. I. E.

2.048
RAYNAUD (Marcel) et VISCONTINI (Max).—1945. Le potential d'oxidoreduction au cours de la régénération des milieux employés pour la culture des anérobies. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 172-187. I. E.

2.049
MACHEBŒUF (M.) et VISCONTINI (Max).—1945. Affinités des protéides pour le cuivre. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 188-200. I. E.

2.050
SARCIRON (René).—1945. Recherches sur les nuclóoprotéides des micro-organismes. II. Sur la nature des protéides phosphorés des levures. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 201-205. I. E.

2.051
LWOFF (Marguerite et André).—1945. Un nouveau réactif biologique de l'acide ρ-aminobenzoïque. Le trypanosomide Strigomonas Incopelti. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 206-209. I. E.

2.052
MARTIN (René), SUREAU (Bernard) et JOYEUX (Yvonne).—1945. Action sur l'organisme de la α-aminophénylsulfamido-2-pyrimide et de la méthyldiazine. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 210-216. I. E.

2.053
GALLIX (M.).—1945. Détermination du pouvoir pyrétogène de quelques vaccins. Etudes expérimentale (suite et fin). **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 217-220. I. E.

2.054
DESCHIENS (R.), JOUAN (C.) et LAMY (L.).—1945. Présentation d'une étuve a microscope. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 220-22. I. E.

2.055
SOHIER (R.).—1945. Indradermo-réactions et allergies comparées a la tuberculine et aux antigènes typho-parathyphoïdique et diphtérique au cours d'affections du tissu réticulo-endothélial el lymphoïde. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 223-224. I. E.

2.056
MOREL (Madeleine).—1945. Caractéres physiologiques différentiels de deux variantes S et R. de Proteus vulgaris. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 225-232. I. E.

2.057
BRETLEY (J.), BROWAEYS (J.) et DERVICHIAN (D.).—1945. Sur certains caractères de la croissance en voile des bacilles acidorésistants. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 233-239. I. E.

2.058
GASTINEL (P.) et BROCARD (H.).—1945. Les modalités du phénomène de Koch au cours de la période allergique de la tuberculose du cobaye. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 240-245. I. E.

2.509
CRUVEILHIER (L.), FAGUET (M.) et GRANDJEAN (N.).—1945. Recherche du bacille de Koch dans les expectorations, les liquides pleuraux et les liquides de tubage par la méthode de moussage- essorage. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 246-249. I. E.

2.060
STAMATIN (Nicolas), GEORGESCO (Victor) et LUSCALOV (Sergiu).—1945. Sensibilité de Pasteurela Avicida a l'action bactéricide des sulfamides. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 250-263. I. E.

2.061
DESNUELLE (Pierre) et CHANG CHI TAN.—1945. Sur la protéine de la grasserie du ver a soie. III. Etude de certains de ses groupements libres. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 264-272. I. E.

2 062
CHOUTEAU (J.).—1945. Recherches sur le mécanisme de la réaction de Bordet-Wassermann. Etude cinétique de la fixation du complément. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 273-283. I. E.

2.063
BONET-MAURY (P.) et WALEN (R.-J.).—1945. Photomètre différentiel pour l'enregistrement automatique des courbes de multiplication bactérienne. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 284-291. I. E.

2.064
FAGUET (M.).—1945. A propos du photomètre différentiel de MM. Bonét-Maury et Walen. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 292-293. I. E.

2.065
BEQUIGNON (R.) et VIALAT (CH.).—1945. Les vaccinations antirabiques a l'Institut Pasteur en 1944. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 294-296. I E

2.066
PARAF (Jean) et DESBORDES (Jean).—1945. Réaction d'allergie tuberculinique et acide gras α-α disubstitués (suite et fin). **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 297-299. I. E.

2.067
LAPORTE (R.).—1945. Relations entre l'insolubilité de la substance granulaire du bacille de Koch et les aspects principaux de la réaction de l'organisme et l'infection tuberculeuse (suite et fin). **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 300-303. I. E

2.068
GUELIN (A.).—1945. Comportement du bactériophage au cours de son développement dans l'eau de Seine autoclavée en l'absence de multiplication bactérienne. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 303-306. I. E.

2.069
CHOUTEAU (J.).—1945. Recherches sur le cinétique de la réaction de Bordet-Wassermann. Influence de la quantité de sérum sur le vitesse de réaction. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 307-309. I. E.

2.070
LASFARGUES (E.).—1945. Emploi du plasma de cheval pour la culture des tissus. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 310-311. I. E.

2.071
NICOL (Louis).—1945. Dispositif simple permettant d'effectuer chez les grands animaux le prélèvement aseptique du sang dans des buts bactériologiques. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 311-313. I. E.

2.072
TCHIAN (Y. T.).—1945. Préparation du silico-gel stérile. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 313-317. I. E.

2.073
PREVOT (A. -R.).—1945. Diagnostic des espèces spherophorus necrophorus et spherophorus funduliformis. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 317-319. I. E.

2.074
BOIVIN (A.) et LEHOULT (Y.).—1945. Sur la coexistence possible des antigènes complets et des haptènes libres chez les colibacilles et chez d'autres bactéries voisines. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 319-320. I. E.

2.075
GRABAR (Pierre) et GALLUT (Jean).—1945. Recherches immunichimiques sur le vibrion cholérique. IV. Essais de purification de la substance hypothermisante de la toxine cholérique. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 321-326. I. E.

2.076
VENDRELY (R.) et SARCIRON (R.).—1945. Recherches sur les nucléoprotéides des micro-organismes. III. Sur les constituants colloïdaux cédés par la levure vivante au milieu ambiant. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 327-330. I. E.

2.077
BRETEY (J.) et BROWAEYS.—1945. Mode de division du bacille paratuberculeux de la fléole. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 331-335. I. E.

2.078
LATARJET (Raymond) et WAHL (Robert).—1945. Précisión sur l'inactivation des bactériophages par les rayons ultraviolets. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 336-339. I. E.

2.079
BOQUET (Paul).—1945. Sur les propriétés antivenineuses du sérum de *vipera aspis*. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 340-343. I. E.

2.080
RAYNAUD (A). et RAYNAUD (J.).—1945. Lésions pathologiques des glandes salivaires du mulot (*Apodemus Sylvaticus* L.). I. Etude histologique **Annales de L'Institut Pasteur** .71: 344-372. I. E.

2.081
SOHIER (R.), CAPDEVILLE (J.) et NAVEL.—1945. Intradermoréactions et allergies comparées a la tuberculine et aux antigènes typho-paratyphoidiques et diphtériques au cours d'états infectieux. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 373-378. I. E.

2.082
LOISELEUR (J.).—1945. Sur le mode d'action des ultra-sons sur les microbes. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 378-380. I. E.

2.083
MAIGNON (F.).—1945. Le facteur surrénal dans la tuberculose. Diastases tissulaires de surrénales et acid ascorbique dans la tuberculose expérimentale de cobaye. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 380-384. I. E.

2.084
GRABAR (Pierre) et STAUB (Anne-Marie).—1945. Recherches immunochimiques sur la bactéridie charbonneuse. IV. Etude quantitative des précipitations observées avec certains extraits du *B. Anthracis* et un sérum anticharbonneux de cheval. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 385-393. I. E.

2.085
GRABAR (Pierre) et OUDIN (Jacques).—1945. Etude sur les composés solubles de la réaction de précipitation spécifique (anticorps de cheval polyoside du pneumocoque, type VIII). **Annales de l'Institut Pasteur.** 71: 394-405. I. E.

2.086
NEGRE (L.), BERTHELOT (A.), BRETEY (J.) et FETHKE (N.).—1945. Essais de recherches sur les conditions dans lesquelles le palmitate, le stéarate et le laurate d'éthyle et leurs alcools peuvent exercer une action retardante sur le processus tuberculeux. **Annales de l'Institut Pasteur.** 71: 406-414. I. E.

2.087
DELAUNAY (A.), VENDRELY (R.), LEHOULT (Y.) et PAGES (J.).—1945. Recherches sur le chimiotactisme leucocytaire. Le pouvoir chimiotactique de certains constituants du bacile tuberculeux. **Annales de l'Institut Pasteur.** 71: 415-421. I. E.

2.088
LEVADITTI (Jean C.) et PRUDHOMME (R.-O.).—1945. Nature du rayonnement lumineux qui supprime la mobilité des micro-organismes doués de fluorescence secondaire en présence de thioflavine. **Annales de l'Institut Pasteur.** 71: 422-430. I. E.

2.089
DELAUNAY (A.) et PAGES (J.).—1945. L'inhibition de la diapédèse par les endotoxines bactériennes et son mecanisme. **Annales de l'Institut Pasteur.** 71: 431-439. I. E.

2.090
BERTRAND (Gabriel) et SILBERSTEIN (Lazare).—1945. Sur la répartition de bore dans les diverses parties de la graine. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 440-444. I. E.

2.091
BERTRAND (Gabriel) et SILBERSTEIN (Lazare).—1945. Le bore dans le grain de blé, la farine et le pain. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 445-448. I. E.

2.092
CECCALDI (J.), PELLISSIER (A.), TRINQUIER (E.) et VARGUES (R.).—1945. La rage humaine en Afrique équatoriale française. **Annales de l'Institut Pasteur.** 71: 449-454. I. E.

2.093
DOBRY (A.) et BOYER (F.).—1945. Sur le nitrososulfure de fer ou sel de Roussin.—Action antiseptique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 71: 455-462. I. E.

2.094
SOHIER (R.), JAULMES (CH.) et TISSIER (M.).—1945. Recherches sur l'antigène provoquant la réaction d'agglutination de Paul et Bunnell. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 463-464. I. E.

2.095
LEGROUX (R.) et SECOND (L.).—1945. Le spore botulique dans la mouche *Piophila Casei* L. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 464-466. I. E.

2.096
TABONE (J.), NITTI (F.) et MOUSSET (H.).—1945. Etudes sur le pouvoir antisulfamide. XI. Nature chimique des quelques facteurs antisulfamides des peptones méthionine, leucine, substance extractibles du muscule. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 467-470. I. E.

2.097
NITTI (F.), TABONE (J.) et MOUSSET (H.).—1945. Etudes sur le pouvoir antisulfamide. XII. Relation entre les facteurs favorisant la multiplication microbienne et le pouvoir antisulfamide. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 470-473. I. E.

2.098
LEGROUX (R.) et JARAMEC (C.).—1945. Technique d'hémoculture aéro-anaérobie. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 473-474. I. E.

2.099
DEINSE van (F.).—1945. Production d'épanchements pleuraux chez le cobaye par inoculation médiastinale de becilles tuberculeux paraffinés vivants ou morts. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 475-477. I. E.

2.100
PEREZ (J.-J.) et LAPORTE (R.).—1945. Action du cétène sur l'activité tuberculinique de l'antigène granulaire du Bacille tuberculeux. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 477-480. I. E.

2.101
LEGROUX (R.), JERAMEC (C.) et LEVADITTI (Jean-C.).—1945. «Poumon d'acier» destiné a l'experimentation aux les animaux de laboratoire. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 480-484. I. E.

2.102
DERVICHIAN (M.).—1945. Remarques et suggestions sur la structure des Protéines-virus. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 484-487. I. E.

2.103
GUELIN (A.).—1945. Nécessité des électrolytes pour la fixation du bactériophage sur les bactéries sensibles. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 487-490. I. E.

2.104
LEGROUX (R.), LEVADITTI (Jean-C.) et JERAMEC (C.).—1945. Influence des voies d'introduction de la toxine sur le botulisme experimental du lapin. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 490-493. I. E.

2.105
BONET-MAURY (P.) et PERAULT (R.).—1945. Etude, par enregistrement photométrique, du mode d'action in vitro des sulfamides. **Annales de L'Institut Pasteur.** 71: 495-502. I. E.

Fotocopias en Microfilm (Unidad = fotograma formato Leica, 24 × 36 mm.).
a) En rollo de cinta continua.
b) En filmofichas.
La modalidad «filmoficha», por la gran facilidad de ordenación, archivación,

localización rápida de las cintas y manejo de lectura, supera con mucho a la modalidad en rollo. Se llama «filmoficha» una tira de película de cinco fotogramas y medio (en otros sistemas seis), en que caben diez páginas de libro ordinario (libro abierto, o sea, dos páginas en cada foto). El medio fotograma que se añade (uno entero en otros sistemas) se destina a «referencia», es decir, título y signatura en la filmoteca y en el centro de origen. Las filmofichas, para ofrecer tales ventajas, van alojadas en unas carpetas «Filmoteca» especialmente dispuestas para contener diez de ellas (cien páginas o cincuenta folios) en lóculos perfectamente adaptados con sus referencias numéricas y espacio preciso para títulos, páginas y toda clase de indicaciones útiles.

Fotocopias en papel.

En positivo; a diversos tamaños; se sirve juntamente el negativo en película, sin aumento de precio, si se pide.

Precios:

En microfilm: 50 céntimos por fotograma. Mínimo pagable: 2,50 pesetas (una filmoficha).

Carpeta «Filmoteca»: 2 ptas. Para cien páginas.

En papel: tamaño 9 × 12 cms., 2 ptas.; 13 × 18 cms., 2,50 ptas.; 18 × 24 cms., 3 ó 4 ptas., según el papel. Tamaños mayores, precios a convenir en cada caso.

OTRAS REVISTAS DEL PATRONATO «ALONSO DE HERRERA»

ANALES DE EDAFOLOGIA Y FISIOLOGIA VEGETAL.—Publicación del Instituto de Edafología y Fisiología Vegetal.

Continuadores de los «Anales del Instituto Español de Edafología, Ecología y Fisiología Vegetal». Abiertos a una amplia colaboración, recogen en sus páginas trabajos sobre suelos y fisiología vegetal, tanto del Instituto de origen como de otros Centros investigadores españoles y extranjeros y, asimismo, estudios de tipo informativo y bibliográfico.

Bimestral. Ejemplar, 20 pesetas. Suscripción, 100 pesetas.

ANALES DE LA ESTACION EXPERIMENTAL DE AULA DEI.—Publicación de la Estación Experimental de Aula Dei (Zaragoza).

Estos «Anales». de reciente aparición, presentan anualmente el conjunto de los trabajos y estudios, publicados o no con anterioridad, que sobre temas propios de Biología Vegetal sean llevados a cabo por los miembros de este Centro.

Precio del tomo anual, 30 pesetas.

ANALES DEL JARDIN BOTANICO DE MADRID.—Publicación del Instituto «Antonio J. de Cavanilles».

Publica trabajos y notas científicas que abarcan todos los campos de la Botánica.

Precio del tomo anual, 100 pesetas.

COLLECTANEA BOTANICA.—Publicación del Instituto Botánico de Barcelona.

Dedicada a la Botánica en general, viene a ser un órgano exterior de la actividad del Instituto Botánico de Barcelona, elemento de enlace con los demás centros de investigación.

Publica trabajos sobre las distintas disciplinas de la Botánica: Sistemática, Florística, Fitosociología, Fisiología, Micología, Biología, Algología, etc.

Dedica una parte a reseñas bibliográficas y a la información.

Semestral. Ejemplar, 15 pesetas. Suscripción, 25 pesetas.

FARMACOGNOSIA.—Publicación del Instituto «José Celestino Mutis».

Esta revista está dedicada al estudio de los problemas de Farmacognosia, tal como se concibe en el momento presente, siendo sus finalidades: una, propiamente científica, que trata de Botánica, análisis químico, experimentación fisiológica y clínica, y otra, de orden práctico, relativa al cultivo y recolección de materias primas idóneas, no sólo para la Medicina, sino para la Dietética y la industria.

Trimestral. Ejemplar, 23 pesetas. Suscripción, 75 pesetas.

GENETICA IBERICA.—Publicación del Instituto «José Celestino Mutis».

Publica trabajos sobre Citología, Citogenética y Genética de los diversos materiales que constituyen el tema específico de investigación en los distintos Centros colaboradores de la revista, en España y Portugal, y los relacionados con la mejora de las especies vegetales que interesan en la Farmacognosia.

Trimestral. Ejemplar, 20 pesetas. Suscripción, 70 pesetas.

PRECIO: 22 PESETAS